

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Orgánica



TESIS DOCTORAL

**Estructuras de nuevos diterpenoides naturales :
componentes de Cleonia Lusitanica, Sideritis
Chamaedryfolia y Acacia Leucophloea y estudio por RMN
de C-13 de los diterpenoides tipo ent-rosa-5, 15-dieno**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María Concepción García Álvarez

Madrid, 2015

María Concepción García Álvarez

TP
1980
156



* 5 3 0 9 8 5 4 2 4 6 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x - 53 - 044154 - 2

ESTRUCTURAS DE NUEVOS DITERPENOIDES NATURALES.

Componentes de Cleonia Lusitanica, Sideritis Chamadrifolia
y Acacia Leucophloea y estudio por RMN de C-13 de los diterpenoides
tipo ent-rosa-5, 15-dieno

Departamento de Química Orgánica
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Complutense de Madrid
1980



BIBLIOTECA

© María Concepción García Álvarez
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1980
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-39408-1980

Autor :

MARIA CONCEPCION GARCIA ALVAREZ

ESTRUCTURAS DE NUEVOS DITERPENOIDES NATURALES

Componentes de Cleonia lusitanica, Sideritis chamaedryfolia
y Acacia leucophloea y estudio por RMN de C-13 de los
diterpenoides tipo ent-rosa-5, 15-dieno

Director :

BENJAMIN RODRIGUEZ GONZALEZ

Investigador Científico del C.S.I.C.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Química Orgánica

Año 1980

Este trabajo ha sido realizado en los laboratorios de la Unidad de Productos Naturales del Instituto de Química Orgánica General, C.S.I.C., desde Marzo de 1976 a Septiembre del mismo año, de Septiembre de 1977 a Julio de 1978 y, finalmente, desde Septiembre de 1979 a Enero de 1980, bajo la dirección del Investigador Científico Dr. Benjamín Rodríguez González, a quien expreso mi reconocimiento.

Mi agradecimiento al Prof. Dr. J.L. Soto Cámara, Catedrático de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, por haber aceptado ser ponente de esta tesis.

Mi agradecimiento también al Dr. F.Velasco, del Instituto de Edafología y Biología Vegetal, C.S.I.C., por su ayuda en los análisis de suelos y al Dr. B.C. Das, del Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette (Francia), por haber permitido que durante mi estancia en sus laboratorios (Octubre de 1976 a Julio de 1977 y Septiembre de 1978 a Julio de 1979) haya realizado allí algunos trabajos relacionados con esta tesis.

Finalmente, mi agradecimiento a la Dirección del Instituto de Química Orgánica General y al personal de sus servicios de instrumentación por las facilidades y ayuda recibidas para la realización de este trabajo.

INDICE

	<u>Página</u>
I.- INTRODUCCION.....	1
II.- PARTE TEORICA.....	11
1. Diterpenoides de <u>Cleonia lusitanica</u>	12
1.1. Caracterización de los componentes diterpénicos previamente conocidos.....	13
1.2. Estructura del nuevo ácido cleonioico.....	22
1.3. Variaciones del contenido diterpénico en la <u>Cleo-</u> <u>nia lusitanica</u> con la procedencia de la planta....	38
2. Diterpenoides de <u>Sideritis chamaedryfolia</u>	43
2.1. Estudios anteriores sobre esta especie botánica..	43
2.2. Estructura de un nuevo derivado de <u>ent</u> -kaur-15- -eno.....	47
3. Diterpenoides de <u>Acacia leucophloea</u>	59
3.1. Estructura del nuevo diterpenoide leucophleol....	59
3.2. Estructura del nuevo diterpenoide leucophleoxol..	66
4. Asignación de los desplazamientos químicos de C-13 a los diterpenoides con esqueleto de <u>ent</u> - -rosa-5,15-dieno.....	78
4.1. Antecedentes bibliográficos, justificación y	

	<u>Página</u>
planteamiento.....	82
4.2.- Asignación de los δ_c al hidrocarburo básico <u>ent</u> -rosa-5,15-dieno y a algunos de sus deriva- dos.....	88
III.- PARTE EXPERIMENTAL.....	95
1. Técnicas generales utilizadas.....	96
2. Diterpenos de <u>Cleonia lusitanica</u>	99
2.1. Extracción y separación de los componentes diter- pénicos.....	99
2.2. Caracterización de los ácidos diterpénicos pre- viamente conocidos.....	100
2.3. Estructura del ácido cleonioico.....	105
2.4. Análisis de la fracción diterpénica en <u>Cleonia</u> <u>lusitanica</u> de diversas procedencias.....	111
3. Diterpenoides de <u>Sideritis chamaedryfolia</u>	113
3.1. Estructura del <u>ent</u> -11 β ,18-dihidroxi-kaur-15- -eno.....	113
4. Diterpenoides de <u>Acacia leucophloea</u>	118
4.1. Extracción y separación de los componentes di- terpénicos.....	118
4.2. Estructura del leucophleol.....	118
4.3. Estructura del leucophleoxol.....	120

	<u>Página</u>
5. Diterpenoides con esqueleto de <u>ent</u> -rosa-5,15-	
-dieno.....	130
5.1. <u>ent</u> -11 β -hidroxi-rosa-5,15-dieno.....	131
5.2. <u>ent</u> -rosa-5,15-dieno.....	132
IV.- CONCLUSIONES.....	133
V.- BIBLIOGRAFIA.....	138
VI.- ESPECTROS DE LOS NUEVOS PRODUCTOS NATURALES.....	157
1. Espectros de IR	158
2. Espectros de RMN de ^1H	162
3. Espectros de RMN de ^{13}C	166.

-1-

I.- INTRODUCCION

Los diterpenoides constituyen un numeroso grupo de sustancias cuyo esqueleto hidrocarbonado está constituido por veinte átomos de carbono y que biogenéticamente derivan del pirofosfato de geranilgeraniol o del pirofosfato de geranil-linalool.

Los compuestos diterpénicos naturales son metabolitos secundarios producidos por microorganismos (1), hongos y plantas (2) y aun que en su día se citó la presencia de una sustancia diterpénica entre los componentes químicos de la orina humana (3), con posterioridad se ha demostrado que procedía del café ingerido y en modo alguno debía ser considerada como metabolito del hombre (4).

Hasta la fecha se conoce un crecido número de sustancias diterpénicas de origen natural, que anualmente se ve incrementado en más de una treintena de nuevas sustancias. Puede afirmarse que alrededor de novecientos diterpenoides, aislados de los más diversos organismos vivientes, se encuentran descritos en la bibliografía química. Sin embargo, toda esta enorme cantidad de compuestos, puede ser clasificada en un número reducido de familias estructurales que responden a un determinado esqueleto hidrocarbonado y el número de estos esqueletos diferentes no excede, en la actualidad, de treinta (5). Por otro lado, los diterpenoides aislados de vegetales, que son los más numerosos, guardan siempre una estrecha relación

con las características botánicas de la fuente natural de que proceden. Así por ejemplo, las Coníferas elaboran generalmente sustancias diterpénicas de la serie normal (10β , tipo esteroide) que se agrupan en no más de cinco familias estructurales que derivan, biogénicamente, de un precursor bicíclico común.

Un problema muy interesante es el del conocimiento del papel bioquímico que ejercen los diterpenoides en los organismos que los contienen y sintetizan. Está perfectamente establecido que todas las sustancias diterpénicas proceden del pirofosfato de geranilgeraniol (o del pirofosfato de geranil-linalool), componente universal de todas las plantas verdes por ser el precursor obligado de los carotenoides que, a su vez, son los agentes químicos que impiden la fotodegradación de las clorofilas. Así pues, en todos los vegetales superiores existe a priori la posibilidad de que el geranilgeraniol se transforme en las diversas sustancias diterpénicas mediante procesos biosintéticos más o menos complicados. Además, hay otro grupo de componentes diterpénicos, el de los derivados de ent-kaureno, que ha de ser también un constituyente universal de las plantas superiores, ya que estas sustancias son los precursores obligados de las hormonas vegetales del crecimiento (las gibberellinas)

(6).

Si bien el geranilgeraniol (y/o el geranil-linalool) y los derivados del ent-kaureno se han encontrado en muchas plantas siempre en cantidades muy pequeñas y, a veces, sólo se han logrado detectar con el empleo de técnicas muy elaboradas, las sustancias diterpénicas sensu lato son componentes muy importantes, desde el punto de vista cuantitativo, de determinadas especies vegetales. Estos diterpenoides son pues sustancias "anormales" bajo dos aspectos: Por un lado, por representar derivaciones anormales de las funciones bioquímicas del geranilgeraniol o del geranil-linalool (formar carotenoides) y de los derivados de ent-kaureno (generar las gibberellinas), y también, porque se hallan presentes en algunos organismos vegetales en cantidades notables sin ser material de reserva. Una planta "normal", bioquímicamente equilibrada, debe contener almacenadas sólo pequeñas cantidades de geranilgeraniol y derivados de ent-kaureno, pero algunas especies vegetales producen enormes cantidades de estas sustancias que utilizan en fabricar resinas o en desviarlas hacia otros productos "anormales" mediante oxidaciones, degradaciones, etc., por rutas biosintéticas que emplean sistemas enzimáticos existentes o inducidos. El único requerimiento absoluto, a nivel celular y para el organismo, es

que una producción no equilibrada de geranilgeraniol y de derivados de ent-kaureno vaya acompañada de la transformación del exceso de estos compuestos en otros productos, con lo que ese "desequilibrio" bioquímico no será letal para el organismo (6).

Es evidente que tanto el geranilgeraniol como los derivados de ent-kaureno, en pequeñas cantidades, juegan un papel primordial en la bioquímica de las plantas, pero no se conoce con certeza si los compuestos diterpénicos en exceso son sustancias de desecho o se sintetizan con una cierta finalidad. En el caso de las resinas de las Coníferas (constituídas en una gran proporción por el diterpenoide ácido abiético y otras sustancias isómeras) no se sabe si ésta es debida a un simple proceso de desintoxicación del vegetal o sirve como defensa contra insectos (6), o ejerce funciones de inhibidora de la deshidratación (7) o es la causa de una buscada simbiosis suelo-microorganismos que facilite nutrientes al vegetal (6). En algunos casos concretos se sabe con toda certeza que las sustancias diterpénicas producidas en exceso son protectoras de los vegetales frente a la acción de algunos depredadores fitófagos, pero hasta el presente no existen datos que permitan atribuir un papel fisiológico o bioquímico importante a los diterpenoides que, en proporciones cuantitativamente elevadas, forman

parte de algunos organismos vegetales.

Las investigaciones químicas realizadas sobre componentes diterpénicos de plantas son tan antiguas como la misma Química de Productos Naturales. En un principio, y hasta mediados del presente siglo, los trabajos llevados a cabo en este campo apenas suponen algún pequeño avance en su conocimiento, debido a que en la mayoría de los casos se trabajaba sobre compuestos impuros o sobre mezclas de sustancias isoméricas. Más tarde, y especialmente en las dos últimas décadas, la química de los diterpenos ha adquirido un rápido desarrollo debido al empleo de las técnicas cromatográficas de separación y purificación y a la aplicación de una gran variedad de métodos físicos al estudio de las estructuras de las sustancias orgánicas (8 a 19).

Los estudios sobre Productos Naturales en general, y más particularmente sobre diterpenoides, son interesantes desde varios puntos de vista:

a) Constituyen un campo de investigación sumamente adecuado para el adiestramiento de futuros investigadores en Química Orgánica, ya que el establecimiento de la estructura de un compuesto natural exige un conocimiento amplio de la Química Orgánica y la

utilización de casi la totalidad de las técnicas instrumentales que se aplican en esta disciplina.

b) Del proceso de establecimiento de estructuras surgen nuevas ideas sobre estereoquímica, reactividad selectiva, interpretación de comportamientos cromatográficos y espectroscópicos, etc.. Estas ideas son las que más han hecho avanzar a la Química Orgánica en los últimos tiempos y prueba de ello es que los químicos orgánicos contemporáneos más reputados o trabajan o proceden de grupos que investigan en Productos Naturales.

c) Desde un punto de vista más amplio, el conocimiento de los constituyentes químicos de los seres vivos y sus procesos metabólicos y biogénéticos ayudan al hombre a desvelar dos problemas de enorme interés: el conocimiento de la vida misma y las tendencias evolutivas de ésta en el Universo.

d) Los productos naturales, como integrantes de la biomasa de nuestro planeta, poseen una serie de propiedades que interfieren, de una u otra forma, con el ciclo vital del hombre. Y restringiendo esta interacción al caso de que actúen como fármacos naturales, es interesante señalar que la Organización Mundial de la Salud, en un Symposium celebrado en Roma el mes de Abril de 1979, afirmó, por boca de sus expertos, que "la medicina tradicional es

hoy día el único medio por el cual cuida su salud el 75% de la población mundial y las plantas son los agentes terapéuticos más importantes de la medicina tradicional" (20). En este sentido, son numerosas las referencias bibliográficas que señalan diversas propiedades farmacológicas de las sustancias diterpénicas, tales como antibacterianas, citotóxicas, antitumorales, antiinflamatorias, antimicrobianas, irritantes, carcinogénicas, hipotensoras, espasmolíticas, antileucémicas, antiulcerosas y antibióticas (21-40).

e) En otro orden de cosas es importante señalar también que los diterpenoides son sustancias que se utilizan con profusión en algunos tipos de industrias: los ácidos diterpénicos procedentes de las resinas de Coníferas se emplean para preparar jabones y detergentes y diversos derivados de sclareol, manool y óxido de mannoilo se utilizan en preparados de perfumería y cosmética (41-43) como sucedáneos del ámbar gris. Por otro lado, el hecho de que un determinado tipo de diterpenoides, como las gibberellinas y algunos derivados de ent-kaureno, sean los principales responsables del crecimiento de vegetales (44) hace que su aplicación en el campo de la agricultura moderna sea realmente importante. También, y relacionado asimismo con aspectos agrícolas, algunos diterpenoides han demostrado poseer un cierto interés como agentes para el

control y eliminación de determinadas plagas de los cultivos (45).

Por todas las razones anteriormente apuntadas y, además, porque la Flora de la Península Ibérica es una de las más variadas y ricas en endemismos del Viejo Continente (46), desde hace varios años se viene desarrollando en la Unidad de Productos Naturales del Instituto de Química Orgánica General (C.S.I.C.) un programa de investigación sobre diversos tipos de metabolitos secundarios de vegetales, entre los cuales las sustancias diterpénicas han sido las que más se han estudiado (para los cinco últimos años ver referencias 47-67).

Pareció interesante continuar en esta misma línea de trabajo y por ello, el estudio de los componentes diterpénicos de varias plantas, el establecimiento de las estructuras de cuatro nuevos diterpenoides naturales y la asignación de los desplazamientos químicos en C-13 de los derivados de ent-rosa-5,15-dieno, constituyen los temas de investigación desarrollados en esta tesis.

Conviene señalar que la nomenclatura química de los compuestos diterpénicos se desarrolló hasta 1968 dentro de la más completa anarquía, hasta tal punto que en la mayoría de los casos era

imprescindible ver la fórmula desarrollada para darse una idea de la estructura de la sustancia. A partir de la fecha mencionada anteriormente, la mayoría de los grupos que investigan sobre diterpenoides han adoptado la nomenclatura sistemática propuesta por Rowe (68) y ésta es la que se utiliza en la presente Memoria.

-11-

II.- PARTE TEORICA

II.1. Diterpenoides de Cleonia lusitanica

La Cleonia lusitanica L. es una planta perteneciente a la familia de las Labiadas y única integrante del género monotípico Cleonia. Es una especie anual, erecta, con denso capítulo ovoide y cuadrangular de visibles flores tubulares de color rosa pálido, sostenidas por características brácteas profundamente pectinadas. Las flores son grandes, alcanzando los dos centímetros de largo; la corola vellosa por fuera, raramente blanca; cáliz y brácteas con pelos cerdosos blancos. Hojas oblongas, irregularmente dentadas o lobuladas.

Crece la Cleonia lusitanica en lugares secos no cultivados y en los pinares, especialmente en sus linderos, siendo muy poco exigente en cuanto a las características edáficas de sus asentamientos.

La Cleonia lusitanica es una especie endémica de la mitad Sur de la Península Ibérica y fuera de este área geográfica sólo se ha citado su presencia en Mauritania donde, probablemente, es introducida.

Hasta el presente, la Cleonia lusitanica no había sido estudiada desde un punto de vista químico y este hecho, unido a que la especie es endémica de la Península Ibérica, nos animó a realizar una investigación sobre sus metabolitos secundarios. Siguiendo los procedimientos de extracción y purificación que se detallan en la Parte Experimental, se lograron aislar cinco compuestos diterpénicos, cuatro de los cuales se identificaron con sustancias previamente conocidas, mientras que el quinto de estos diterpenoides resultó ser un nuevo producto natural, cuya estructura completa (incluida la configuración absoluta) se determinó por el empleo de métodos espectroscópicos, transformaciones químicas y correlación con un diterpenoide descrito con anterioridad.

II.1.1. Caracterización de los componentes diterpénicos previamente conocidos.

El primero de los compuestos diterpénicos aislado de la Cleonia lusitanica es una sustancia difícil de purificar completamente. El espectro IR del producto impuro presentaba absorciones típicas de grupo carboxilo, por lo que se transformó en su ester me-

tílico por reacción con diazometano, lográndose, tras una cromatografía de este derivado, disponer de un producto absolutamente unitario tanto en cromatograma de capa fina sobre gel de sílice, como sobre placas de $\text{SiO}_2 + \text{AgNO}_3$ y, también, en cromatografía de gases.

El ester metílico de este primer compuesto es una sustancia de p.f. 60-63°C, $[\alpha]_D^{18} +49,7^\circ$, que responde a una fórmula empírica de $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$ (microanálisis y espectrometría de masas). Esta fórmula molecular, habida cuenta de la metilación efectuada, conviene en atribuir a la sustancia una estructura diterpénica con siete insaturaciones que pueden ser debidas a dobles enlaces y/o sistemas carbocíclicos. El espectro IR del compuesto presenta absorciones típicas de sistemas aromáticos (3080, 3050, 1610, 1500, 830 cm^{-1}) y de un grupo carbometoxilo (1720 cm^{-1}) en configuración ecuatorial (1250 cm^{-1}) (69). Por otro lado, en el espectro de RMN protónica del compuesto aparecen señales atribuibles a tres protones aromáticos insertados en un sistema 1,2,4-trisustituido (a 6,95 1H, doblete, $J_{3,5} = 2,6$ Hz, H-3; a 7,08 δ 1H, doblete, $J_{6,5} = 9$ Hz, H-6; y a 7,19 δ 1H, doblete de dobletes, $J_{5,6} = 9$ Hz, $J_{5,3} = 2,6$ Hz, H-5), un agrupamiento carbometoxilo (3,68 δ , 3H, singlete) y cuatro grupos metilos (1,28 δ , 6H; 1,10 δ , 3H y 1,04 δ , 3H).

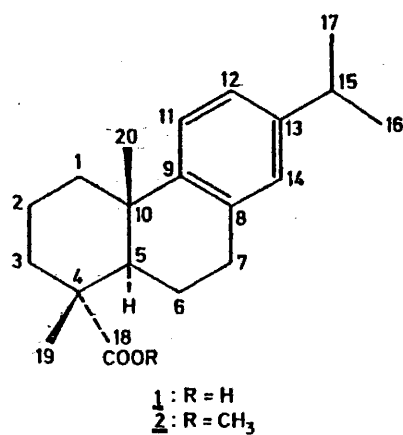
Los datos espectroscópicos anteriormente señalados dan cuenta de cinco de las siete insaturaciones (cuatro en el anillo aromático y una en el grupo -COOMe) de la molécula, por lo que los dos residuales pueden atribuirse a dos anillos carbocíclicos adicionales, ya que los dos átomos de oxígeno del compuesto pertenecen al grupo ester.

Todas estas observaciones apuntan hacia un esqueleto de abietano para el diterpenoide, en el cual el anillo C sería el aromático y la función carboxílica metilada se encontraría en el carbono ecuatorial C-18. Un compuesto con esta estructura es el ácido dehidroabiético (1), y comparando los datos del ester metílico del primer diterpenoide aislado de la Cleonia lusitanica con los citados en la bibliografía para el ester metílico del ácido dehidroabiético (2), se comprobó que las sustancias eran absolutamente idénticas en todas sus constantes físicas (pf. $[\alpha]_D$) (70-73) y valores espectroscópicos (IR, ^1H y ^{13}C RMN) (74). Así pues, uno de los componentes diterpénicos de la Cleonia lusitanica es el ácido dehidroabiético (1).

La estructura química de este compuesto ha sido establecida con todo rigor mediante una síntesis total (75) que permitió resolver las dudas entonces existentes sobre su configuración a nivel

de C-4.

El ácido dehidroabiético es un componente común de las resinas de muchas Coníferas (70,72) y una materia de interés industrial



en la preparación de jabones y detergentes, así como sustancia de partida en la obtención de compuestos con propiedades antibacterianas (76).

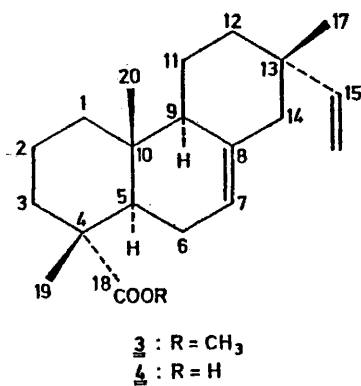
El segundo de los diterpenoides aislado de la Cleonia lusitánica es también un ácido diterpénico que se purificó a través de su ester metílico, el cual posee una fórmula molecular de $C_{21}H_{32}O_2$

y es un sólido de pf. 59-61° y una rotación específica de -6,7°.

Tanto el espectro IR como el de RMN protónica ponen de manifiesto la existencia en su molécula de los siguientes agrupamientos funcionales: una cadena vinílica asentada sobre un carbono sp^3 totalmente sustituido (3090, 1635, 915 cm^{-1} ; sistema ABX en RMN protónica: $\delta_X = 5,90$, $\delta_B = 4,95$, $\delta_A = 4,93$, $J_{AB} = 1,7$ Hz, $J_{AX} = 10,0$ Hz, $J_{BX} = 18,0$ Hz), un doble enlace olefínico trisustituido que posee un metileno contiguo (3050, 835 cm^{-1} ; una señal ancha, $W_{1/2} = 10$ Hz, que integra por un protón a 5,37 δ), un agrupamiento de carbometoxilo en configuración ecuatorial (1720, 1245 cm^{-1} ; singlete de 3H a 3,67 δ) y tres grupos metilos unidos a carbonos carentes de hidrógenos (singletes de 3H a 1,28, 0,90 y 0,85 δ). El agrupamiento de carbometoxilo debe encontrarse asentado sobre un carbono cuaternario uno de cuyos sustituyentes ha de ser un grupo metilo, ya que en el espectro de masas del derivado metilado que venimos considerando, aparece un ión a m/e 101 que es característico de esta estructura parcial (77).

Todos los datos anteriormente apuntados, junto con los requerimientos de la fórmula molecular del compuesto, apuntan hacia un esqueleto de pimarano o de isopimarano para este diterpenoide. Revisada la bibliografía, se encontró que las constantes físicas

(pf. y $[\alpha]_D$) y los datos espectroscópicos (IR, EM, ^1H y ^{13}C RMN) del compuesto aislado de la Cleonia lusitanica coincidían rigurosamente con los citados en la bibliografía (78- 80) para el ester metílico del ácido isopimara-7,15-dien-18-oico (3).



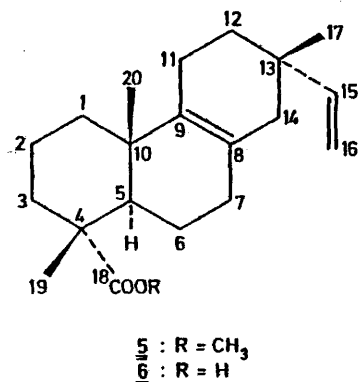
Así pues, otro de los diterpenoides metabolizados por la Cleonia lusitanica es el ácido isopimara-7,15-dien-18-oico (4), conocido como ácido isopimárico y cuya estructura, perfectamente establecida hoy día (78,79), fué objeto de enormes controversias (81).

Otro diterpenoide aislado de la Cleonia lusitanica, purificado también como ester metílico, ya que se trata de un ácido natu-

ral, es una sustancia isómera del compuesto 3, que funde a 68-70° y posee una rotación específica de +92,0°. El espectro IR de este producto, comparado con el de 3, sólo se diferencia en la ausencia de las absorciones atribuidas a la olefina trisustituida, mientras que están presentes las bandas asignadas al grupo vinilo y al carbometoxilo. El espectro de RMN protónica, comparado con el del compuesto 3, acusa señales asignables a los agrupamientos mencionados (ver Parte Experimental) y, además, a tres grupos C-Me (singletes de 3H a 1,20, 0,98 y 0,96 δ) y no presenta señal alguna de protón asentado sobre carbono olefínico, aparte de los tres implicados en el grupo vinilo.

Todos estos datos apuntan hacia una estructura similar a la del isopimarato de metilo (3) en la cual el doble enlace existente entre los carbonos 7 y 8, estuviera situado entre los átomos de carbono 8 y 9, siendo pues tetrasustituido. Esta suposición se confirmó plenamente con el espectro de RMN de ^{13}C , en el que los carbonos sp^2 implicados en este doble enlace aparecen, como singletes en los espectros de "off- resonance" a 136,3 y 124,3 ppm, valores concordantes con las resonancias descritas para los carbonos C-9 y C-8, respectivamente, en derivados de isopimara-8,15-dieno (80,82).

Revisada la bibliografía química, se encontró que el diterpenoide a que nos venimos refiriendo era absolutamente idéntico en todo (pf, $[\alpha]_D$, IR, RMN de ^1H y ^{13}C , etc) al ester metílico del ácido isopimara-3,15-dien-18-oico (5), aislado en 1968 de la resina del Pinus peuce (83) y que había sido preparado anteriormente a partir del ácido dextropimérico (84,85).



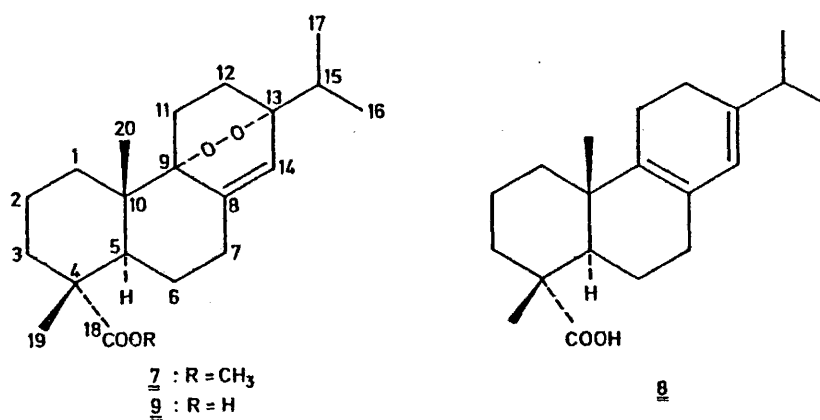
El ácido diterpénico 6 es pues otro de los componentes de la Cleonia lusitanica y su estructura, aparte de encontrarse perfectamente establecida con anterioridad (83-85), fué confirmada ahora por simple isomerización del compuesto 3 al ser refluído en ben-

ceno con unos cristales de I_2 (86), obteniéndose cuantitativamente una sustancia absolutamente idéntica en todo al producto extraído de la planta (5).

Finalmente, el cuarto de los diterpenoides previamente descritos aislado de la Cleonia lusitanica es el endoperóxido 7, que como compuesto natural no ha sido descrito, pero sí como producto de la oxidación con el aire del ácido palústrico (8)(87,88). Dada la facilidad de la adición del O_2 al sistema diénico para originar este tipo de endoperoxidos (89), la presencia del ácido $9\alpha,13$ -peróxido-8(14)-abieten-18-oico (9) entre los metabolitos secundarios de la Cleonia lusitanica puede ser debida a que la planta elabore ácido palústrico (8) y que en el proceso de extracción éste se peroxide por la acción del oxígeno del aire y en reacción fotosensibilizada por la misma clorofila de la planta. Sin embargo, a pesar de que se ha repetido el proceso de extracción en condiciones adecuadas para evitar la peroxidación, no ha podido ser detectada la presencia del diterpenoide 8 y sí la de su "artefacto" 9.

Más adelante, en el apartado II.1.3, se hacen algunos comentarios sobre la presencia del diterpenoide 9 entre los metabolitos de la Cleonia lusitanica, mientras que en la Parte Experimental

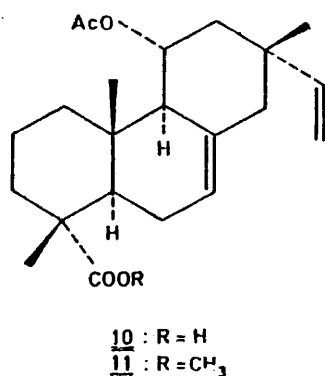
(III.2.2.) se incluyen los datos que permitieron establecer su identidad con el ácido 9 α ,13-peroxido-8(14)-abieten-18-oico.



II.1.2. Estructura del nuevo ácido cleonioico.

Otro de los diterpenoides aislados de la Cleonia lusitanica, también de naturaleza ácida y purificado, como los anteriores, a través de su derivado metilado, poseía unas constantes físicas y

datos espectroscópicos que no correspondían con los de ninguno de los ácidos diterpénicos descritos hasta ahora en la bibliografía química. A este nuevo compuesto se le dió la denominación trivial de ácido cleonioico, atendiendo a su procedencia botánica, y su estructura de ácido 11α -acetoxi-7,15-isopimaradien-18-oico (10) se estableció en base a las razones que se exponen a continuación.



El metil ester del ácido cleonioico (11) es un sólido de fórmula molecular $C_{23}H_{34}O_4$ que funde a 128-130° y que presenta una rotación específica de -16,9°. De los cuatro átomos de oxígeno que posee su molécula, dos están implicados en un grupo carbometoxilo

(señal de 3H, singlete, a $3,62 \delta$ en el espectro de RMN protónica del compuesto 11) y los otros dos pertenecen a un resto de acetoxilo (singlete de 3H a $2,00 \delta$) unido a la molécula por un carbono secundario cuyo protón geminal aparece, en el espectro de RMN de ^1H como sextete a $5,04 \delta$.

Por otro lado, la molécula del ester metílico del ácido cleonioico, posee un resto vinílico asentado sobre un carbono sp^3 totalmente sustituido, ya que en el espectro de RMN se presenta el típico sistema ABX de este agrupamiento ($\delta_{\text{A}} = 4,83$, $\delta_{\text{B}} = 4,87$ y $\delta_{\text{X}} = 5,71$; $J_{\text{AB}} = 1,5 \text{ Hz}$, $J_{\text{AX}} = 10,5 \text{ Hz}$ y $J_{\text{BX}} = 17,5 \text{ Hz}$). Además, ha de existir en su estructura otro doble enlace, de naturaleza trisustituida, pues a $5,44 \delta$ aparece la señal de un protón olefínico que además, ha de poseer en el carbono vecinal al menos dos hidrógenos (anchura media de la señal $\approx 10 \text{ Hz}$). Finalmente, en la zona de campos altos del espectro del compuesto 11, aparecen tres singletes que se asignan a otros tantos grupos metilos asentados sobre carbonos cuaternarios ($1,24$, $0,95$ y $0,92 \delta$).

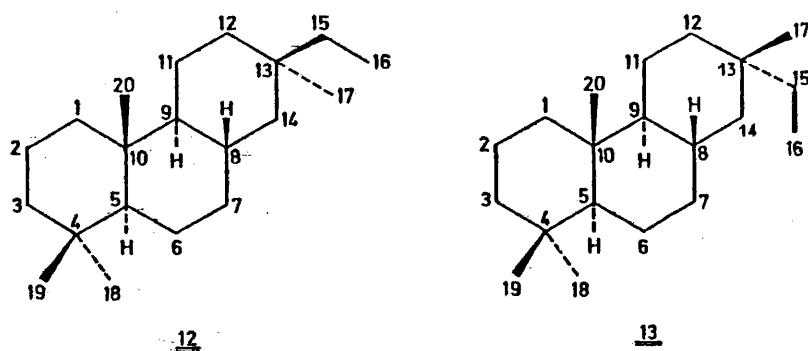
El espectro de RMN protónica del ester metílico del ácido cleonioico (11) (Fig.5) anteriormente descrito es virtualmente idéntico al del ester metílico del ácido isopimárico (3) (90). Las únicas diferencias se hallan en que en el espectro del compuesto 3 no apa-

recen las señales correspondientes al grupo acetoxilo y en que uno de los singletes de C-Me está desplazado paramagnéticamente ($\Delta\delta = +0,08$) en el caso del producto 11.

Los requerimientos de la fórmula molecular del ester metílico del ácido cleonioico, junto con los datos de su espectro de RMN protónica y la similitud de éstos con los observados para el ester metílico del ácido isopimarico (3), sugieren ya que la estructura del nuevo ácido aislado de la Cleonia lusitanica debe responder a un esqueleto hidrocarbonado de pimarano (12) o de isopimarano (13, epímero en C-13 de 12) que posea una cadena lateral vinílica (Δ^{15}) y un doble enlace olefínico en el sistema carbocíclico que, a priori puede situarse en Δ^5 , Δ^7 , $\Delta^{8(14)}$ o $\Delta^{9(11)}$. Además, la molécula posee un resto de -COOR (R=H para 10, R=CH₃ para el compuesto 11) que podría estar en los carbonos C-17, C-18, C-19 o C-20, y finalmente, un grupo acetoxilo que, dada la multiplicidad que presenta la señal de su protón geminal en el espectro de RMN protónica (seis líneas, $J_{aa'} = J_{aa''} = 10$ Hz, $J_{ae} = 5$ Hz), debe encontrarse en configuración ecuatorial sobre un átomo de carbono secundario flanqueado por un grupo metileno y un grupo metino. Este acetoxilo podría encontrarse, dependiendo de dónde se situase el doble enlace trisustituido, sobre los carbonos C-6, C-7 y C-11 de los esque-

letos de pimarano o isopimarano.

La observación minuciosa del espectro de RMN protónica del compuesto 11 (Fig.5) en lo que se refiere a los desplazamientos químicos



cos y constantes de acoplamiento del sistema ABX de los protones del grupo vinilo, permite inferir que éste ha de hallarse en configuración ecuatorial, ya que los datos que proporciona la bibliografía para un grupo vinilo sobre C-13 en configuración ecuatorial (91) son similares a los observados en el compuesto 11 y difieren de los señalados para compuestos epiméricos en C-13 (grupo vinilo axial), tal como puede verse en la Tabla 1.

Así pues, el nuevo diterpenoide aislado de la Gleonia lusita-

nica debe pertenecer al esqueleto hidrocarbonado de isopimarano (13) y, en consecuencia, la cadena lateral vinílica ha de ser α .

Tabla 1

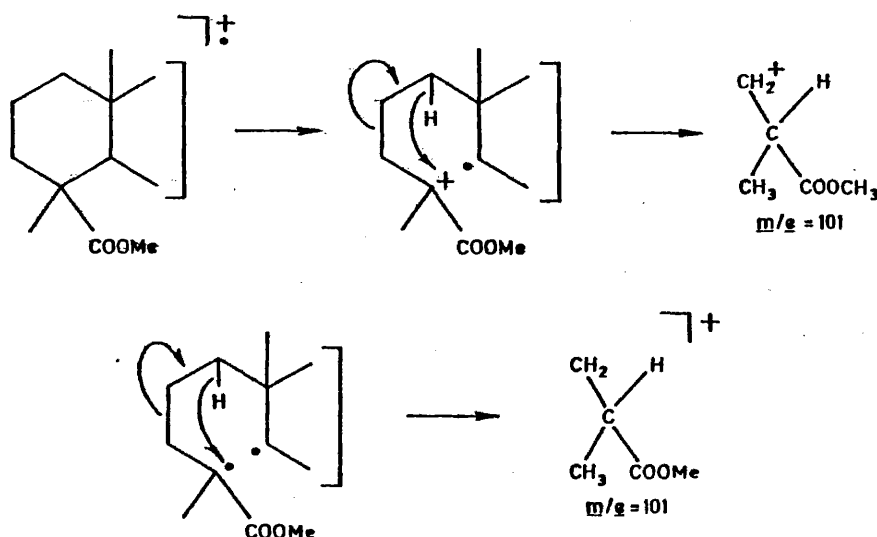
Desplazamientos químicos (en δ) y constantes de acoplamiento (en Hz) del sistema ABX de cadenas vinílicas en diterpenoides

COMPUESTO	δ_A	δ_B	δ_X	J_{AB}	J_{AX}	J_{BX}
<u>11</u> Δ^{15} -Pimarenos	4,83	4,87	5,71	1,5	10,5	17,5
(vinilo axial)	4,79	4,90	5,72	1,4	9,0	15,5
<u>15</u> Δ^{15} -Isopimarenos						
(vinilo ecuatorial)	4,85	4,90	5,69	1,9	10,1	17,1

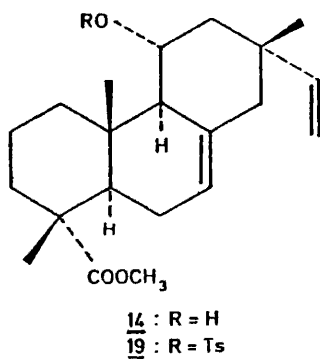
En cuanto a lo que se refiere a la posición del doble enlace olefínico existente en el sistema carbocíclico, la de $\Delta^{8(14)}$ queda automáticamente descartada al considerar que el protón de este doble enlace ha de dar una señal singlete y no una señal ancha ($\nu_{1/2} = 10$ Hz) como aparece en el espectro de RMN protónica del compuesto 11. Las posibilidades de que este doble enlace se encuentre entre los carbonos 5-6 o 9-11 son muy pequeñas, si se tiene en

cuenta que en estos casos serían previsibles unos desplazamientos químicos muy diferentes para los grupos C-Me en el compuesto 11 y en el isopimarato de metilo (3)(90,92), y lo que en realidad se observa es una pequeña variación (+ 0,08δ) en uno sólo de los metilos. Parece pues muy probable que el doble enlace olefínico trisustituido del ester metílico del ácido cleonioico (11) se encuentre situado entre los carbonos 7 y 8 del esqueleto hidrocarbonado de isopimarano (13).

La localización del grupo carbometoxilo sobre uno de los sustituyentes de C-4 (C-18 o C-19) es inmediata, ya que el espectro de masas del compuesto 11 presenta un ión a m/e 101 (20% del pico base) típico de esteres metílicos de diterpenoides que posean esta función sobre los carbonos C-18 o C-19 (77), y que se genera por el mecanismo que se representa a continuación:



La decisión de si el grupo -COOMe corresponde al carbono C-18 (ecuatorial) o C-19 (axial) se puede basar en la posición de las bandas de absorción que en el IR dan estos agrupamientos (69), pero en el caso del compuesto 11 (Fig.1) no se puede aplicar este criterio porque las bandas correspondientes al grupo acetoxilo podrían enmascarar las debidas al grupo carbometoxilo. Por ello se procedió a tratar al compuesto 11 con hidróxido potásico en etanol a temperatura ambiente, con lo que se obtuvo cuantitativamente un derivado $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3$ (14) que carece del grupo acetilo (ausencia de la señal correspondiente al $\text{CH}_3\text{COO-}$ y corrimiento diamagnético del protón geminal al acetoxilo, que en el espectro de RMN protónica del compuesto 14 aparece a $3,87\delta$) y cuyo espectro IR presenta absorciones típicas (1250 cm^{-1}) de agrupamiento carbometoxilo en configuración ecuatorial sobre C-4 (-COOCH_3 de C-18) (69).

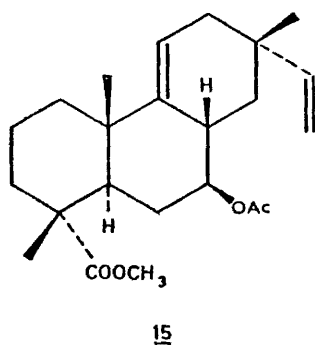


Situadas ya las funciones -COOMe, doble enlace olefínico trisustituido y cadena lateral vinílica, sólo falta por determinar la posición donde se encuentra el grupo acetoxilo en la molécula del ácido cleonioico. Teniendo en cuenta además que este grupo ester no es alílico, ya que el desplazamiento químico de su protón geminal ($5,04 \delta$) así lo excluye, sólo la posición C-11 es compatible con todos los resultados anteriormente reseñados. Queda pues claro que el acetoxilo posee configuración ecuatorial (su protón geminal se presenta en RMN de ^1H como un sextete con dos constantes de acoplamiento axial-axial idénticas, 10 Hz) y se halla emplazado entre un metileno ($J_{ae} = 5 \text{ Hz}$) y un metino y, además, que espacialmente se encuentra próximo al grupo metilo C-20, ya que este agrupamiento está modificado en su entorno magnético al aparecer su señal a campo diferente al que resuena en el isopimarato de metilo.

Sin embargo, todas las razones aducidas anteriormente y que llevan a asignar una fórmula como 11 al cleonioato de metilo, podrían también aplicarse, aunque menos rigurosamente, a la estructura isomérica 15 de 7β -acetoxi-isopimara-9(11),15-dien-18-oato de metilo, pero el estudio del espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 11 (Fig.9) y una serie de reacciones químicas que se expondrán más adelante, descartaron totalmente esta segunda posibilidad (15) pa-

ra la estructura del nuevo diterpenoide.

En efecto, la comparación del espectro de RMN de ^{13}C del ester metílico del ácido cleonioico (11) con el del ácido isopimárico (4) (80) (Tabla 2) no sólo confirma la naturaleza de esqueleto de iso-



pimara-7,15-dieno (ver resonancias de C-7, C-15, C-16 y C-17) para el compuesto aislado de la Cleonia lusitanica, sino que establece, sin duda razonable alguna, que en C-18 (y ecuatorial) existe una función carbometoxilo (C-18 = 178,7 ppm, C-19 = 17,5 ppm y $-\text{OCH}_3$ = 51,8 ppm) y que el grupo acetoxilo (singlete a 169,8 ppm y cuartete a 22,1 ppm, $-\text{CO}-$ y CH_3- , respectivamente) se encuentra ecuatorialmente unido al carbono C-11, ya que este átomo resuena a 70,9

ppm y se observan corrimientos paramagnéticos sobre C-1, C-9 y C-12 (1,0, 3,3 y 6,1 ppm, respectivamente) y efectos diamagnéticos sobre

Tabla 2

Desplazamientos químicos (en ppm desde el TMS) de los carbonos en los compuestos 11 y 4

NºC	<u>11</u>	<u>4</u>	NºC	<u>11</u>	<u>4</u>
1	40,2	39,2	11	70,9	20,5
2	18,2	17,9	12	42,1	36,0
3	36,7	37,2	13	36,7 ^a	37,5
4	46,8	46,4	14	46,4	46,5
5	44,7	45,4	15	148,3	150,7
6	25,2	25,7	16	109,9	109,7
7	124,4	121,5	17	21,8 ^b	21,9
8	133,8	136,0	18	178,7	183,9 ^c
9	55,7	52,4	19	17,5	17,5
10	36,2 ^a	35,5	20	15,3	15,7
-OCH ₃	51,8	--			
CH ₃ -COO	169,8	--			
CH ₃ -COO	21,1 ^b	--			

^{a,b} Las señales pueden ser intercambiadas

^c A 178,8 ppm en el ester metílico 3 (Ver Parte Experimental)

C-8 y C-13 (-3,0 y -0,8 ppm, respectivamente) con relación al espectro del compuesto 4, los cuales justifican plenamente esta conclusión.

Queda pues establecido que la estructura del ester metílico del ácido cleonioico responde a la fórmula 11 y no a la 15, ya que las variaciones observadas en los δ_C entre el compuesto de la Cleonia lusitanica y el ácido isopimárico (4) están más en concordancia con la estructura de 11 α -acetoxi-7,15-isopimaradien-18-oato de metilo (11) que con su isómero 7 β -acetoxi-9(11),15-isopimaradien-18-oato de metilo (15). Por otro lado, las pequeñas discrepancias observadas en los δ_C de los carbonos 7 y 15, pueden ser justificadas por ligeras diferencias conformacionales entre los compuestos 11 y 4 como consecuencia de las interacciones estéricas entre los hidrógenos de C-1 y el grupo acetoxilo de C-11 en el cleoniato de metilo (11)(93).

Aunque el cúmulo de razones espectroscópicas aducidas hasta ahora fijan, sin duda razonable alguna, la estructura del ester metílico del ácido cleonioico como la representada en 11, ésta se confirmó posteriormente mediante una serie de reacciones químicas que, además, permitieran establecer la configuración absoluta del compuesto.

Cuando el derivado 14, obtenido a partir del cleonionato de metilo por hidrólisis alcalina suave, se hace reaccionar con trióxido de cromo en piridina (reactivo de Sarett) (94) durante 48 horas, se obtiene una nueva sustancia, $C_{21}H_{28}O_4$, cuya estructura conserva los agrupamientos funcionales de carbometoxilo y cadena lateral vinílica, pero que, además, posee dos grupos carbonilos (señales a 200,3 y 200,2 ppm en su espectro de RMN de ^{13}C) y un doble enlace tetrasustituido (singletes a 154,2 y 141,9 ppm) en lugar del alcohol secundario y el doble enlace olefínico trisustituido inicialmente presentes en el compuesto 14. Los desplazamientos químicos de los grupos cetónicos en el espectro de RMN de ^{13}C , los requerimientos del esqueleto hidrocarbonado de isopimarano (13) para la inclusión en él de una olefina tetrasustituida y el hecho de que los grupos carbonilos presenten en el IR una absorción a 1670 cm^{-1} , típica de cetonas α,β -insaturadas, sugieren ya que, de no haberse producido un reagrupamiento del esqueleto hidrocarbonado, la estructura del diceto ester obtenido por reacción de Sarett sobre el compuesto 14 ha de ser la representada en la fórmula 16. Por otro lado, la absorción en el UV de la sustancia 16 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 266 nm, $\epsilon = 7.800$) es característica de este tipo de cromóforos (95,96) tanto por la longitud de onda a que aparece el máximo como por el valor de su

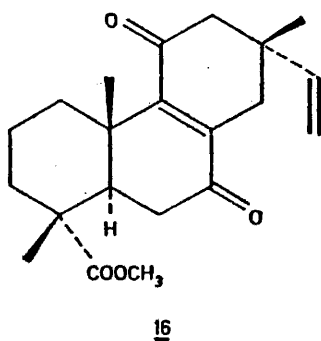
coeficiente de extinción molar.

De acuerdo con la estructura 16, el producto natural ha de tener el doble enlace entre los carbonos 7 y 8 y el grupo acetoxilo en C-11 (11) o, por el contrario, poseer la olefina en posición $\Delta^{9(11)}$ y el acetoxilo en C-7 (estructura isomérica 15).

Como la configuración ecuatorial del grupo acetoxilo está fuera de toda duda por las características espectrales de su protón geminal (vide supra), el grupo acetoxilo ha de ser α - si se encuentra sobre C-11 y β - si estuviese situado en el carbono C-7. Si por razones biogénicas se asume la hipótesis de que el ácido cleonioico posee una configuración absoluta normal (tipo esteroide), idéntica a la que presentan los otros cuatro ácidos diterpénicos ya conocidos detectados en la Cleonia lusitanica, la configuración absoluta del grupo AcO- es 11R o 7S y la aplicación del método de Horeau del desdoblamiento parcial de racémicos (97-102) al compuesto desacetilado 14 podrá proporcionar conclusiones definitivas sobre la estructura del nuevo diterpenoide, siempre que la hipótesis sobre su configuración absoluta sea correcta.

Cuando el producto 14 se somete a reacción con la mezcla racémica del anhídrido del ácido (\pm)- α -fenil-butírico, se obtiene un desdoblamiento parcial del enantiómero R del ácido, por lo que la

configuración absoluta del alcohol ensayado (14) ha de ser R (100), y en consecuencia, si este alcohol se encuentra sobre un esqueleto

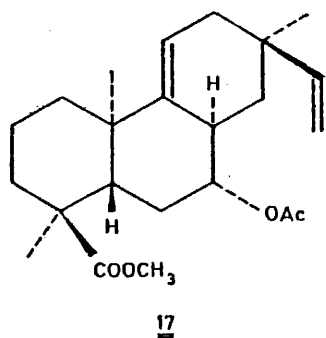


de isopimarano de configuración absoluta normal, ha de estar sobre el carbono C-11 y no sobre el C-7, de acuerdo con lo anteriormente expuesto.

Como quiera que la configuración absoluta del compuesto no ha sido definida hasta ahora y haciendo abstracción de las razones biogénicas ya apuntadas, todos los datos anteriormente reseñados permiten concluir que el ester metílico del ácido cleonioico es el 11 α -acetoxi-isopimara-7,15-dien-18-oato de metilo (11) o, menos probablemente, el ent-7 β -acetoxi-isopimara-9(11),15-dien-18-oato

de metilo (17).

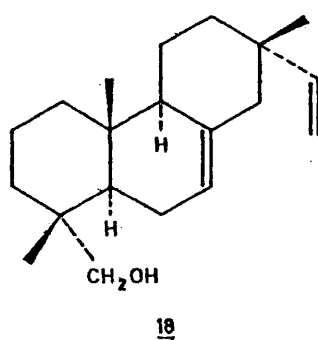
La prueba final sobre la existencia de una función carboxílica sobre C-18 (ecuatorial), del esqueleto hidrocarbonado de isopimara-7,15-dieno y, en consecuencia lógica, de la existencia de un grupo



acetoxilo en configuración ecuatorial sobre C-11 en el nuevo diterpenoide aislado de la Cleonia lusitanica, se logró mediante la transformación del compuesto 14 en el conocido diterpenoide isopimarol (isopimara-7,15-dien-18-ol) (18), cuya estructura se halla perfectamente establecida (103,104).

En efecto, el tratamiento del derivado 14 con cloruro de tosi-
lo en piridina origina el 11-tosil derivado (19), el cual, reducido

en disolución de éter etílico con hidruro de litio y aluminio, produce, con un 60% de rendimiento, un compuesto cuyas constantes físicas y datos espectroscópicos coinciden rigurosamente con las ci-



tadas en la bibliografía para el isopimarol (18) (103,104) y, que además, es idéntico a una muestra auténtica de este compuesto preparada por reducción del diterpenoide 3 con H_4LiAl .

Esta correlación establece con toda firmeza la estructura y configuración absoluta del ácido cleonioico como la representada por la fórmula 10, es decir, de ácido 11 α -acetoxi-isopimara-7,15-dien-18-oico (105).

II.1.3. Variaciones del contenido diterpénico en la Cleonia lusitanica con la procedencia de la planta.

Desde un punto de vista quimiotaxonómico, el contenido de la Cleonia lusitanica en metabolitos diterpénicos es un poco sorprendente, ya que las estructuras encontradas, y particularmente el ácido dehidroabiético (1) y el endoperóxido del ácido palústrico (9), son muy poco frecuentes en especies pertenecientes a la familia de las Labiadas. Por otro lado, tanto los derivados de isopimarano como de abietano, son diterpenoides típicos de plantas de las familias Pináceas (géneros Picea, Larix y Pinus) y Cupresáceas (géneros Cupressus y Juniperus).

Como quiera que el entorno ecológico en el que se desarrolla preferentemente la Cleonia lusitanica es precisamente en comunidades vegetales en las que están integrados representantes de las familias Pináceas y Cupresáceas y, además, los suelos de estas comunidades vegetales son, generalmente, de naturaleza básica, se pensó que la presencia en la Cleonia lusitanica de diterpenoides cuyas estructuras son idénticas o muy similares a las de los compuestos metabolizados por las Pináceas y Cupresáceas podría ser debida a que tales compuestos fuesen tomados del suelo bajo forma de sus sa-

les minerales (ya que todos los diterpenoides son ácidos), o bien que la comunidad vegetal promoviese un sistema enzimático inducido en la Cleonia lusitanica que "recordase" el existente en las otras plantas dominantes de la comunidad (pinos, cipreses y sabinas en general).

La primera de las suposiciones podría verse apoyada por el hecho de que en la Cleonia lusitanica no ha podido detectarse la presencia del ácido palústrico (8), abundante en las Pináceas, y sí se encuentra en cantidades importantes su primer producto de degradación ambiental, el 9α ,13-peróxido-8(14)-abieten-18-oico(9).

Naturalmente, el estudio riguroso del problema aquí planteado exige una investigación concertada con especialistas de diversos campos científicos y, por otro lado, hace necesario el estudio de especies cultivadas bajo condiciones estrictamente controladas en naturaleza de suelos y entorno ecológico. Este tipo de investigación cae fuera de los objetivos de esta tesis y será motivo de un programa de investigación que se iniciará en la primavera de 1980.

Sin embargo, se ha realizado un análisis comparativo de muestras de Cleonia lusitanica procedente de tres localidades diferentes en cuanto a características edáficas y comunidad vegetal, encontrándose diferencias cuantitativas notables en el contenido en cuatro

de los diterpenoides de la planta: ácido dehidroabiético (1), ácido isopimárico (4), ácido isopimara-8,15-dien-18-oico (6) y ácido cleonioico (10), diferencias que se reúnen en la Tabla 3. Desgraciadamente, el método analítico empleado (cromatografía de gases de los esteres metílicos) no ha permitido obtener resultados sobre el endoperóxido del ácido palústrico (compuesto 9), pues esta sustancia se descompone en las condiciones del análisis y sus productos de transformación no han podido ser identificados, por lo que su contenido en el material analizado ha sido, por ahora, imposible de determinar.

De los limitadísimos datos contenidos en la Tabla 3 puede deducirse que el contenido en ácido dehidroabiético (1) de la Cleonia lusitanica posee un valor máximo para los ejemplares recolectados en comunidades vegetales con pinos y sabinas (23,99% del total de diterpenoides), disminuye cuando ha sido recolectada fuera de pinares, pero existiendo éstos en las proximidades (16,70%), y es mínimo en las plantas que crecen sobre terrenos alejados de plantaciones de coníferas (7,19%), mientras que los diterpenoides de esqueleto de isopimarano (4, 6 y 10) varían, en general, en sentido contrario.

Respecto a las influencias edáficas en el contenido diter-

Tabla 3

Variación del contenido en ácidos diterpénicos de la Cleonia lusitanica (% de cada componente en el total de la fracción diterpénica)

COMPONENTE	Muestra nº1 ^a	Muestra nº2 ^b	Muestra nº3 ^c
Acido dehidroabiético (<u>1</u>)	23,99	16,70	7,19
Acido isopimarico (<u>4</u>)	47,73	37,32	37,15
Acido isopimara-8,15-dien- -18-oico (<u>6</u>)	19,08	32,86	37,55
Acido cleonioico (<u>10</u>)	9,20	13,12	18,11

^a Muestra recogida en Julio (1979) en el Puente de San Pedro (Guadalajara) bajo pinares y sabinales, en buen estado de floración. Planta completa. Características de suelo: Suelo pardo calizo, pH= 8,1; composición del complejo de cambio: Na⁺, K⁺, Mg²⁺= 10,75%, saturación: 100%, materia orgánica 54,18%, nitrógeno 0,27%, todo en el horizonte A.

^b Muestra recogida en Julio (1979) en las proximidades de Morata de Tajuña (Madrid), fuera de pinares (pero existentes en las proximidades), en buen estado de floración. Planta completa. Características del suelo: pH= 8,3; materia orgánica 0,7%, nitrógeno 0,06%, carbonatos 8%, todo en el horizonte A.

^c Muestra recogida en Julio (1979) en las colinas de yesos de Vaciamadrid (Madrid), sin pinares ni sabinales en su proximidad, en buen estado de floración. Planta completa. Características del suelo: pH= 7,4; arena 28%, limo 53%, arcilla 19%, materia orgánica 9,8%, carbonatos 20%, todo en el horizonte A.

énico (notas a, b y c de la Tabla 3), éstas son más difíciles de interpretar y, evidentemente, será necesario realizar experimentos muy controlados para determinar la repercusión de cada una de las características del suelo en el contenido diterpénico de la planta.

II.2. Diterpenoides de Sideritis chamaedryfolia

El género botánico de las Sideritis, perteneciente a la familia de las Labiadas, ha sido una fuente importante de sustancias diterpénicas, habiéndose aislado de sus diferentes especies casi un centenar de nuevos productos pertenecientes a los más variados esqueletos hidrocarbonados (47-56, 58, 61, 106-145).

La especie Sideritis chamaedryfolia Cav. es endémica de las terrazas fluviales de la zona de Villena (Alicante).

II.2.1. Estudios anteriores sobre esta especie botánica

Los estudios químicos realizados con anterioridad sobre los metabolitos secundarios de la Sideritis chamaedryfolia (48, 55), revelaron la existencia de trece sustancias diterpénicas, siete de las cuales eran estructuras naturales nuevas (55). De los trece diterpenoides aislados de la planta, siete pertenecen a la serie normal (tipo esteroide) y los seis restantes a la serie enantio, siendo la S. chamaedryfolia la primera especie peninsular del género en la que

se ha detectado la coexistencia de diterpenoides con unión de anillos A/B normal y antípoda.

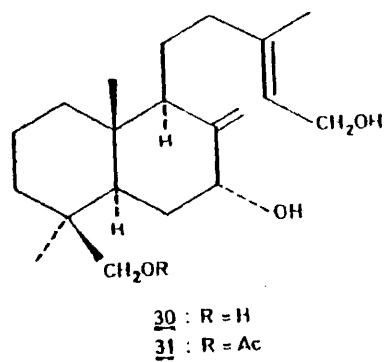
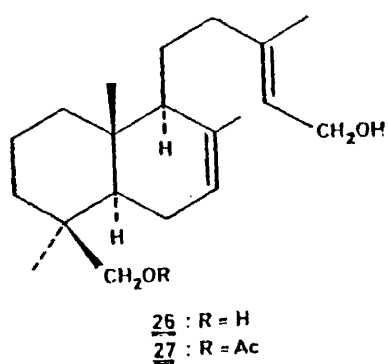
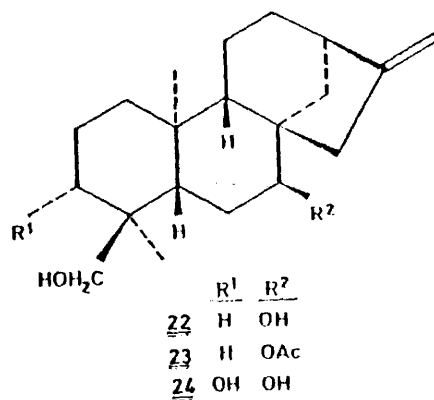
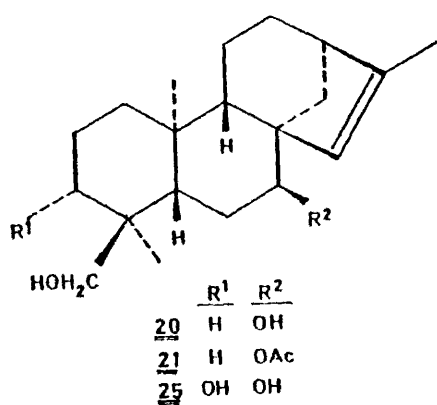
Los diterpenoides previamente detectados en la planta pertenecen a los esqueletos hidrocarbonados de ent-kaur-16-eno, ent-kaur-15-eno y labdano y en la Tabla 4 se reseñan sus nombres triviales, denominaciones de acuerdo con la nomenclatura de Rowe (68), referencias bibliográficas de la primera vez que se aislaron como productos naturales y estructuras desarrolladas a las que corresponden.

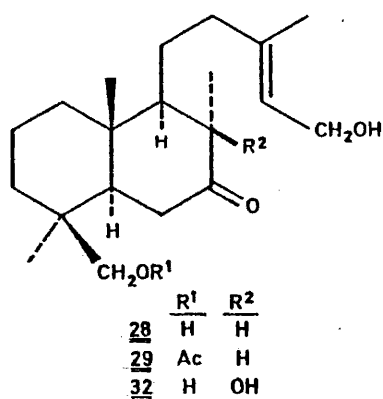
Una revisión cuidadosa de la fracción diterpénica de la S. cha-aedra folia condujo al aislamiento de un diterpenoide muy minoritario (0,0009% sobre planta seca), que resultó ser nuevo en la bibliografía química, ya que sus constantes físicas y datos espectrales no coincidían con ninguno de los descritos hasta ahora, y cuya estructura de ent-11 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno se estableció en base a los resultados que se exponen a continuación.

Tabla 4

Diterpenoides aislados de la Sideritis chamaedryfolia

Nombre trivial	Denominación sistemática	Referencia	Estructur
Sideridiol	<u>ent</u> -7 α ,18-dihidroxi- -kaur-15-eno	(106)	<u>20</u>
Siderol	<u>ent</u> -7 α -acetoxi-18-hi- droxi-kaur-15-eno	(106)	<u>21</u>
7- <u>epi</u> Candican- diol	<u>ent</u> -7 α ,18-dihidroxi- -kaur-16-eno	(140,141)	<u>22</u>
7-Acetil- <u>epi</u> candican- dicandiol	<u>ent</u> -7 α -acetoxi-18-hi- droxi-kaur-16-eno	(114)	<u>23</u>
Folliol	<u>ent</u> -3 β ,7 α ,18-trihi- droxi-kaur-16-eno	(139)	<u>24</u>
Isofolliol	<u>ent</u> -3 β ,7 α ,18-trihi- droxi-kaur-15-eno	(139)	<u>25</u>
Villenol	15,19-dihidroxi-labda- -7,13 <u>E</u> -dieno	(55)	<u>26</u>
19-Acetil ville- nol	19-acetoxi-15-hidroxi- -labda-7,13 <u>E</u> -dieno	(55)	<u>27</u>
Villenolona	15,19-dihidroxi-8 α - -labd-13 <u>E</u> -en-7-ona	(55)	<u>28</u>
19-Acetilville- nolona	19-acetoxi-15-hidroxi- -8 α -labd-13 <u>E</u> -en-7-ona	(55)	<u>29</u>
Villenatriol	7 α ,15,19-trihidroxi- -labda-8(17),13 <u>E</u> -dieno	(55)	<u>30</u>
19-Acetil ville- natriol	19-acetoxi-7 α ,15-dihi- droxi-labda-8(17),13 <u>E</u> -dieno	(55)	<u>31</u>
Villenatriolona	8 β ,15,19-trihidroxi-labd- -13 <u>E</u> -en-7-ona	(55)	<u>32</u>





II.2.2. Estructura del nuevo derivado de ent-kaur-15-eno

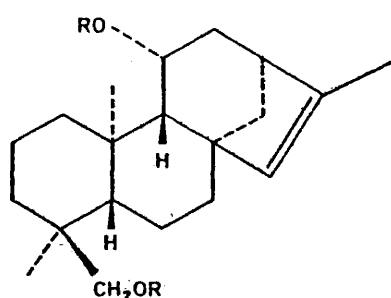
El nuevo diterpenoide (33), de pf. 183-185°C, $[\alpha]_D^{20} -5,0^\circ$, posee una fórmula molecular de $C_{20}H_{32}O_2$ y su espectro IR (Fig.2) presenta absorciones típicas de hidroxilo alcohólico (3615, 3290 cm^{-1}) y de olefina trisustituida (3040, 1650, 825 cm^{-1}). Su espectro de RMN protónica (Fig.6) revela la existencia de dos agrupamientos C-M (singletes de 3H a 1,28 y 0,76 δ), un metilo con acoplamiento alíli

co unido a un carbono olefínico (señal de 3H a 1,69 δ , doblete, $J = 1,5$ Hz), un hidroximetileno unido a un carbono totalmente sustituido (sistema AB centrado a 3,26 δ , $J = 10,6$ Hz), un protón geminal de un hidroxilo secundario (señal compleja a 4,25 δ , $W_{1/2} = 24$ Hz) y, finalmente, un protón olefínico (5,04 δ , $W_{1/2} = 6$ Hz).

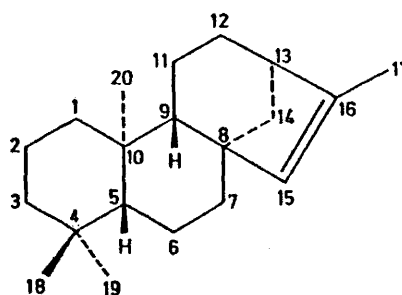
El tratamiento del compuesto 33 con anhídrido acético y piridina conduce al derivado diacetilado 34 ($C_{24}H_{36}O_4$) en cuyo espectro de RMN de protón aparecen los singletes de los dos acetoxilos a 2,07 y 2,01 δ y las señales correspondientes al sistema AB del hidroximetileno están paramagnéticamente desplazadas (cuartete centrado a 3,76 δ , $J = 11,3$ Hz), lo mismo que el protón geminal del hidroxilo secundario, que en el compuesto 34 resuena a 5,39 δ .

De todos los datos anteriormente descritos, se deduce que el nuevo diterpenoide aislado de la Sideritis chamaedryfolia ha de ser un diterpenoide tetracarbocíclico con una insaturación olefínica y dos grupos alcohólicos, uno primario y otro secundario, y habida cuenta además de que la olefina es trisustituida, sólo los esqueletos diterpénicos de ent-kaur-15-eno (35) o de ent-atis-15-eno (36) pueden ser considerados como probables, ya que el esqueleto tetracarbocíclico de ent-beyer-15-eno (37) se descarta totalmente por las características del doble enlace olefínico (1,2-disustituido en 37).

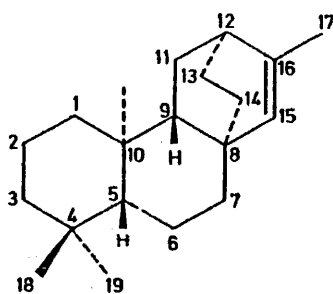
El establecimiento del grupo alcoholico primario en el carbono C-18 (ecuatorial) es inmediato, ya que los desplazamientos quimicos



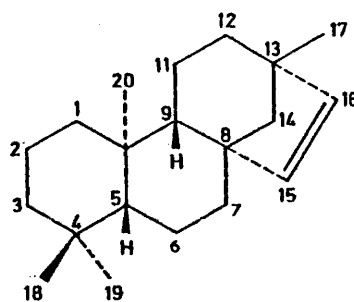
33 : R = H
34 : R = Ac



35



36



37

del sistema AB en los compuestos 33 (3,26 δ) y 34 (3,76 δ) coinciden exactamente con los reseñados en la bibliografía (146) para di-

terpenoides con grupos $-\text{CH}_2\text{OH}$ y $-\text{CH}_2\text{OAc}$, respectivamente, sobre C-4 y configuración ecuatorial (en C-18). Por otro lado, la variación del desplazamiento químico del metilo axial de C-19 entre el nuevo diterpenoide (33, 0,76 δ) y su derivado diacetilado (34, 0,83 δ) confirma la localización del alcohol primario en C-18, ya que el corrimiento paramagnético causado por la acetilación es idéntico al observado en el caso del diterpenoide Candol B (ent-18-hidroxi-kaur-16-eno) (114).

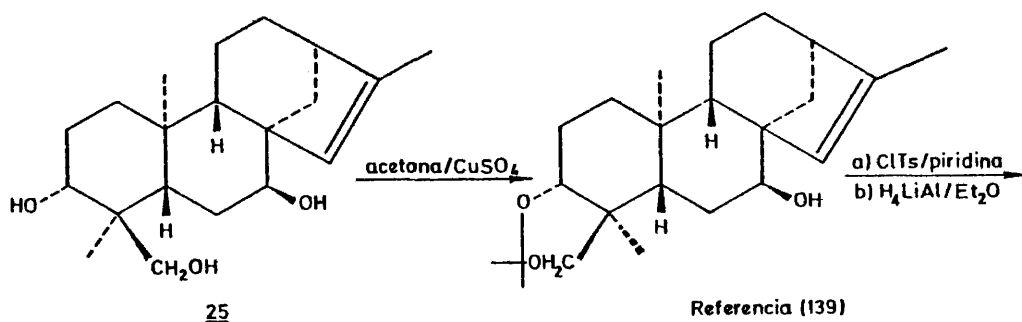
Por otro lado, el metilo angular de C-20 de los diterpenoides es fácil de localizar en RMN de protón porque su señal es más ancha, y consecuentemente menos alta, que las de los demás grupos metilos, debido a la existencia de acoplamientos a larga distancia (106). El campo normal a que resuenan los protones de C-20 en esqueletos diterpénicos derivados del kaureno y del atiseno es de 1,00 a 1,12 δ y en el nuevo diterpenoide aislado de la Sideritis chamaedryfolia el metilo angular aparece anormalmente desapantallado, a 1,28 δ en el compuesto natural (33) y a 1,30 δ en su derivado diacetilado (34), lo cual exige que el alcohol secundario del nuevo diterpeno se halle en una posición capaz de dar cuenta de este efecto, ya que la naturaleza de la función oxigenada asentada en C-18 (el alcohol primario en el caso del compuesto 33) no ejerce influencia alguna sobre

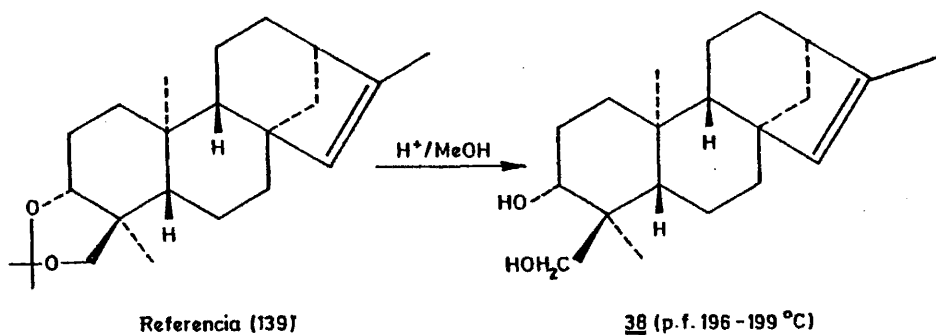
el desplazamiento químico de los protones de C-20 (106). Estas observaciones llevan a considerar como únicas posiciones probables para el asentamiento del carbinol secundario aquellas que sean capaces de ejercer un efecto desapantallante sobre el metilo C-20, que para el esqueleto hidrocarbonado de ent-kaur-15-eno (35) serán las de ecuatorial sobre C-1 (ent-1 β -OH) (147), axial sobre C-2 (ent-2 β -OH) (148), axial sobre el carbono C-6 (ent- 6 β -OH) (54), axial o ecuatorial sobre el carbono C-11, dependiendo de la conformación del anillo C (149,150), pero de configuración ent-11 β -OH o, finalmente, en posición ent-12 β -OH (150), mientras que en el caso de un posible derivado de ent-atis-15-eno (36), el grupo hidroxilo secundario, para que causase un apantallamiento de los hidrógenos de C-20, tendría que ser ent-1 β -OH, ent-2 β -OH, ent-6 β -OH, ent-11 β -OH, ent-13 β -OH o ent-14 β -OH. En el caso de derivado de ent-kaur-15-eno (35), los datos que aporta la bibliografía (151,152) excluyen totalmente la posibilidad de que el hidroxilo secundario se halle en C-11 y estereoquímica ent-11 α -OH, cualquiera que sea la conformación del anillo C del diterpenoide.

La señal del protón geminal del alcohol secundario aparece, en el espectro de RMN de protón del compuesto 33, como dos aparentes tripletes centrados a 4,25 δ . Esta posibilidad excluye totalmente

la posición C-1 para el hidroxilo, además de las C-13, C-7 y C-14 (esta última sólo en el esqueleto de ent-kaur-15-eno) que también se descartan porque los dos epímeros en C-7 del ent-7,18-dihidroxi-kaur-15-eno están descritos en la bibliografía (106,111) y porque el ent-3 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno (38) ha sido preparado por nosotros a partir del isofoliol (25) mediante la secuencia de reacciones que se indica en el Esquema I, y tampoco las constantes físicas y datos espectroscópicos de estos diterpenoides coinciden con los del nuevo compuesto aislado de la Sideritis chamaedryfolia.

Esquema I





Además, el hecho de que el metilo axial C-19 resuene a $0,76\delta$ en el compuesto 33 y a $0,83\delta$ en su diacetato (34), campos idénticos a los observados para el Candol B y su acetato (114), excluye asimismo la posibilidad de que el alcohol secundario del nuevo diterpenoide (33) se halle en configuración axial sobre C-2 ó C-6, ya que si estuviese en alguna de ellas, el metilo C-19 aparecería también desapantallado y no resonaría a campos idénticos a los del Candol B (compuesto que sólo posee un hidroxilo en C-18, vida supra).

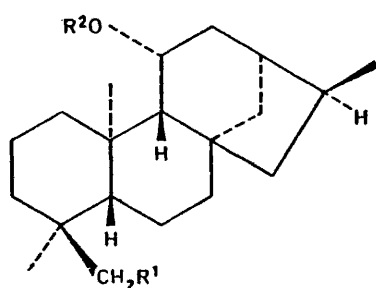
Quedan pues como posiciones y configuraciones posibles para el alcohol que venimos considerando las de ent-11 β y ent-12 β del esqueleto de ent-kaur-15-eno (35) y las de ent-11 β y ent-13 β del sis-

tema carbocíclico de ent-atis-15-eno (36). Sin embargo, la posibilidad de un esqueleto de ent-iso-atiseno (36) para el compuesto de la Sideritis chamaedryfolia (33) puede ser excluida de forma total en base al razonamiento siguiente: Por la multiplicidad observada en la señal del protón geminal del -OH secundario queda completamente descartado que el alcohol se halle en las posiciones C-7 o C-14 de los esqueletos de isokaureno (35) o de isoatiseno (36), y por tanto, el protón olefínico de C-15 no puede estar influenciado por el carbinol secundario. El campo a que resuena el H-15 en el compuesto 33 es de 5,04 δ , idéntico al observado en ent-kaur-15-enos tales como el ent-18-acetoxi-kaur-15-eno (5,08 δ) (114) o el ester metílico del ácido ent-kaur-15-en-18-oico (5,06 δ) (106), pero muy alejado del valor típico que presentan los ent-atis-15-enos ($\delta_{H-15} = 5,60$) (153). También el desplazamiento químico del metilo C-17 en el nuevo diterpenoide 33 (1,69 δ) concuerda mejor con los valores observados para ent-kaur-15-enos (35) (1,71-1,67 δ) que para ent-atis-15-enos (36) (1,74-1,76 δ) (153).

Como consecuencia de todo lo reseñado anteriormente, sólo son posibles para el nuevo diterpenoide dos hipótesis estructurales: o es el ent-11 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno (33) o el ent-12 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno, confirmándose plenamente la primera de ellas por

las razones que aducen a continuación.

La hidrogenación catalítica del compuesto 33 conduce al dihidroderivado 39, de configuración 16S (140), que, tratado con anhídrido acético en piridina, se transforma en el diacetato 40, sustancia unitaria en cromatografía de gases, lo cual confirma la estereoselectividad de la reacción de hidrogenación del compuesto 33 (140). El espectro de RMN de protón del derivado 39 presenta la señal del metilo secundario C-17 a 0,99 δ (doblete, $J = 6$ Hz), el singlete del metilo



	R^1	R^2
<u>39</u>	OH	H
<u>40</u>	OAc	Ac
<u>41</u>	H	H
<u>42</u>	OTs	H

C-20 a $1,25\delta$ y el protón geminal del alcohol secundario a $4,35\delta$ (dos aparentes tripletes, $W_{1/2} = 21$ Hz). El ligero corrimiento paramagnético ($\Delta\delta = +0,1$) de esta última señal con respecto al producto natural 33, justifica que el hidroxilo secundario se encuentre en configuración ent- β sobre C-11 o C-12, ya que en el diterpenoide 33 el efecto apantallante del enlace π debe actuar sobre los protones ent- α de estos carbonos. Por otro lado, en el derivado 39 los desplazamientos químicos de los protones H-17, H-20 e hidroximetínico, son concordantes con los citados en la bibliografía (150) para el ent-11 β -hidroxi-16S-kaurano (41) y se diferencian netamente de los valores observados para el ent-12 β -hidroxi-16S-kaurano (150) (ver Tabla 5). Así pues, el grupo alcohólico secundario del nuevo diterpenoide ha de hallarse en C-11 y configuración ent- β . Como una prueba adicional de esta conclusión, puede aducirse el hecho de que tanto en el espectro de RMN protónica del compuesto natural (33) como en el de su dihidroderivado (39), aparece a $2,65\delta$ un doblete de protones asignable al protón ent-1 β , el cual se halla fuertemente desapantallado por la función hidroxílica de C-11 (150,154).

La prueba definitiva sobre la estructura 33 asignada al nuevo diterpenoide de la Sideritis chamaedryfolia se obtuvo de la forma siguiente: El tratamiento del derivado 39 con cantidades estequiomé-

tricas de cloruro de tosilo en piridina, condujo al monotosilato 42, el cual, sin previa caracterización, fue reducido con NaI y Zn en

Tabla 5

COMPUESTO	H-17	H-20	<u>ent</u> -11 α H	<u>ent</u> -12 α H
<u>39</u>	0,99 δ (<u>d</u> , <u>J</u> =6 Hz)	1,25 δ (<u>s</u>)	4,35 δ (2 <u>t</u> , <u>W</u> _{1/2} =21 Hz)	-----
<u>41</u>	1,00 δ (<u>d</u> , <u>J</u> =6 Hz)	1,21 δ (<u>s</u>)	4,28 δ (2 <u>t</u> , <u>W</u> _{1/2} =20 Hz)	-----
<u>ent</u> -12 β -hi- droxi-16 <u>S</u> - -kaurano	0,99 δ (<u>d</u> , <u>J</u> =6,3 Hz)	1,20 δ (<u>s</u>)	-----	3,95 δ (<u>d</u> ancho, <u>W</u> _{1/2} =9 Hz)

dioxano (155) para dar un compuesto (41) absolutamente idéntico en todo (pf. espectros IR y ¹H RMN) al ent-11 β -hidroxi-16S-kaurano anteriormente preparado por McAlees y McCrindle (150).

Aunque la configuración absoluta del diterpenoide 33 no ha sido establecida de un modo riguroso, debido en parte a la pequeña cantidad de material disponible (compuesto extraordinariamente minori-

tario en la planta: 0,0009% sobre material vegetal seco) y también, a que los autores que prepararon el derivado 41 no señalan en su publicación (150) el dato de la rotación específica del compuesto, la

Tabla 6

Variación del valor de $[\alpha]$ en los compuestos 33 y 39

	λ_{365} nm	λ_{436} nm	λ_{546} nm	λ_{578} nm	$\lambda_D(589)$ nm
<u>33</u>	+56,5°	+15,7°	+0,3°	-1,5°	-5,0°
<u>39</u>	-105,0°	-67,8°	-38,5°	-36,5°	-35,6°

variación del valor de $[\alpha]$ entre el diterpenoide natural (33) y su 16S-dihidroderivado (39) (Tabla 6), es semejante a la observada entre otros pares de ent-kaur-15-enos y sus correspondientes ent-16S-kauranos (106). Por ello, y aparte de razones de tipo biogenético que podrían aducirse en apoyo de esta conclusión (6,55) la estructura completa del nuevo diterpenoide aislado de la Sideritis chamaedryfolia es la de ent-11 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno (33) (156).

II.3. Diterpenoides de Acacia leucophloea

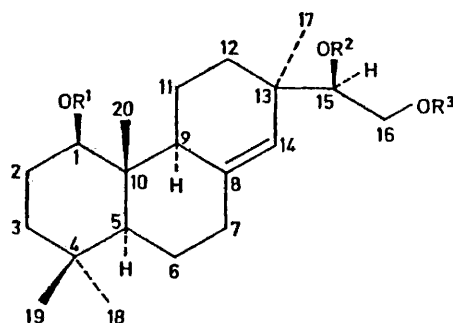
La Acacia leucophloea (Roxb.) Willd. es una Mimosácea con porte de árbol endémica de las regiones secas del NO. de la India, concretamente en el estado de Rajasthan, cuya madera se utiliza en ebanistería y que produce un látex al cual se atribuyen muchas propiedades terapéuticas en la medicina popular indostánica.

Sobre las distintas partes de este árbol, se han realizado con anterioridad algunos estudios químicos que condujeron al aislamiento y caracterización del β -sitosterol, del triterpenoide α -amirina, de alcoholes lineales superiores y de un glucosido de myrecetina (157,158).

La investigación realizada sobre la corteza de la raíz de la Acacia leucophloea, ha conducido ahora al aislamiento de dos nuevos compuestos diterpénicos, cuyas estructuras se establecieron de la forma que se detalla a continuación.

II.3.1. Estructura del nuevo diterpenoide leucophleol

El primero de los nuevos diterpenoides aislado de la Acacia leucophloea recibió el nombre trivial de leucophleol y se le asignó una estructura de 1 β , 15R, 16-trihidroxi-pimar-8(14)-eno (43) como consecuencia de todas las observaciones y razonamientos siguientes:



	R ¹	R ²	R ³
<u>43</u>	H	H	H
<u>44</u>	H	-CMe ₂ -	
<u>45</u>	Ac	-CMe ₂ -	

El leucophleol posee una fórmula de C₂₀H₃₄O₃ y su espectro IR (Fig.3) presenta fuertes absorciones de hidroxilo (3290, 3200 cm⁻¹) y de olefina trisustituida (1655, 840 cm⁻¹), mientras que la región carbonílica aparece sin absorción alguna. El espectro de RMN protó-

nica (Fig.7) del leucophleol (43) posee bandas que pueden ser asignadas a un protón olefínico que carece de átomos de hidrógeno en posición vecinal (1H, singlete, a $5,23\delta$, $\underline{W}_{1/2} = 4$ Hz), a cuatro protones geminales de grupos hidroxilos (señal compleja extendida entre $3,76\delta$ y $3,26\delta$) y, finalmente, cuatro singletes de otros tantos grupos metilos asentados sobre carbonos cuaternarios ($0,98$, $0,86$, $0,83$ y $0,80\delta$).

Por otro lado, el espectro de masas del compuesto 43 presenta el pico base del espectro a m/e 261, lo cual supone una pérdida de 61 u.a.m. que pueden ser debidas a la existencia en el diterpenoide de una cadena lateral de 1,2-dihidroxietilo ($-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) (135). Además, en el referido espectro de masas, aparecen iones a m/e 304 y 243, que se interpretan como pérdidas de agua a partir del ión molecular ($M^+ = 322 \underline{m/e}$) y del ión a $\underline{m/e}$ 261, respectivamente.

Los datos del espectro de masas, junto con las observaciones de RMN protónica, convienen en aceptar como muy probable la existencia en la molécula del leucophleol (43) de un grupo alcohólico secundario sobre un sistema carbocíclico y una cadena lateral de 1,2-dihidroxietilo, que darían cuenta de los tres átomos de oxígeno de la molécula. Además, los requerimientos de la fórmula molecular y el número y tipo de funciones enumeradas anteriormente, exigen que, de

no existir un doble enlace tetrasustituido, el leucopholeol responde a un esqueleto diterpénico tricarbo-cíclico.

El tratamiento del diterpenoide natural con acetona en presencia de CuSO_4 anhidrido, produce cuantitativamente un derivado acetónido (44) cuyo espectro de masas presenta el pico base también a m/e 261, pero ahora por pérdida de 101 u.a.m., lo cual confirma que la cadena lateral eliminada es de 1,2-dihidroxietilo en el caso del compuesto natural (43) y de su derivado acetónido en la sustancia 44. Además, al tratar el acetónido 44 con anhidrido acético en piridina, se obtiene un nuevo compuesto (45) cuyo espectro IR no presenta absorciones de -OH alcohólico y que en RMN protónica posee una señal a 4,66 δ del protón geminal al acetilo introducido. Dicho acetoxilo debe ser ecuatorial y, además, estar situado entre un átomo de carbono sp^3 totalmente sustituido (el desplazamiento químico excluye la posibilidad de que el acetoxilo sea alílico, pues en este supuesto debería aparecer a campo más bajo) y un grupo metileno, ya que su protón geminal aparece bajo la forma de un cuartete con unos valores de $J_{aa} = 9$ Hz y $J_{ae} = 6$ Hz, típicos de un acetoximetino con el sustituyente oxigenado en configuración ecuatorial y flanqueado por átomos de carbono de las características señaladas (131).

Todos los datos señalados anteriormente sugieren para el leuco-

phleol una estructura basada en los esqueletos de pimarano (12) o isopimarano (13), que posea una cadena lateral de 1,2-dihidroxietilo, un grupo hidroxilo secundario (y ecuatorial) en las posiciones C-1, C-3 o C-12 y, finalmente, un doble enlace entre los carbonos C-8 y C-14. Esta última suposición está soportada también por el hecho de que el espectro de RMN protónica del compuesto natural (43) presenta la señal típica del protón alílico ecuatorial de C-7 a 2,29 δ (ocho líneas ensanchadas: $J_{\text{geminal}} = 14$ Hz, $J_{\text{ea}} = 5$ Hz, $J_{\text{ee}} = 2$ Hz, $J_{\text{alílico}} \approx 1$ Hz) observada anteriormente en algunos derivados de isopimar-8(14)-enos (159).

El espectro de RMN de ^{13}C del acetónido (44) (Fig.10, Tabla 7) está en completo acuerdo con la estructura 43 propuesta para el leucophleol, ya que la existencia de un grupo -OH sobre C-1 y configuración ecuatorial está firmemente apoyada por el fuerte efecto " γ -gauche" que se ejerce sobre C-20 ($\Delta\delta = -6,4$ ppm, valor típico de $\delta_{\text{C-20}}$ en pimaranos 14,9 ppm) y, además, por el hecho de que los desplazamientos químicos de los átomos de carbono C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-9, C-10 y C-11 en el derivado 44 son idénticos a los valores calculados tomando como base esqueletos de pimar-8(14)-enos (80) y considerando los efectos que ejerce sobre ellos un grupo hidroxilo ecuatorial sobre C-1 (ver Tabla 7) (160-162). Por otro lado, los

Tabla 7

Espectros de RMN de ^{13}C del compuesto 44 (experimental)
y del diterpenoide 43 (calculado)
(δ_{C} en ppm desde el TMS)

nº de carbono	<u>44</u>	<u>43</u>
1	79,1	79,1
2	29,9 ^a	30,9
3	39,8	39,8
4	33,2	33,3
5	54,1	54,3
6	22,4	22,9
7	36,3	36,0
8	138,6	138,3
9	52,0	51,7
10	43,9	43,7
11	21,8	21,9
12	31,8 ^a	31,8
13	36,3	37,4
14	126,7	127,1
15	83,4	79,1
16	65,6	63,5
17	21,7 ^b	21,5
18	33,2	33,9
19	22,7 ^b	22,5
20	8,5	9,4

^{a, b} Estas asignaciones pueden ser intercambiadas

valores que cita la bibliografía (163) para los desplazamientos químicos de los carbonos C-8, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16 y C-17, son casi idénticos (ver Tabla 7 y referencia 163) a los calculados para el leucophleol (43) a partir de los datos experimentales de su derivado 44, teniendo en cuenta los efectos que produce un grupo acetónido en varios tipos de diterpenoides con cadena lateral de 1,2-dihidroxietilo (apartado II.4.2. de esta tesis y 164). En particular, el desplazamiento químico del átomo de carbono C-8 en el compuesto 44 (138,6 ppm), que sólo está ligeramente influenciado por el resto de acetónido ($\Delta\delta = -0,3$ ppm) (164), está más en consonancia con un esqueleto de pimar-8(14)-eno (138,1 ppm) (80,163) que con su epímero en el centro asimétrico C-13 (isopimar-8(14)-eno) (165). Este último esqueleto presenta una resonancia para el carbono C-8 de 136,5 ppm y la posibilidad de que en el compuesto 44 el C-8 esté paramagnéticamente desplazado como consecuencia de un posible efecto δ ejercido por el hidroxilo de C-1, es extraordinariamente pequeña y discutible (166).

El espectro de RMN de ^{13}C también proporciona pruebas sobre la estereoquímica del leucophleol en el alcohol secundario de la cadena lateral (C-15). Este resuena, para una configuración 15R, a 78,2 ppm (163), valor casi idéntico al calculado para el compuesto 43

(Tabla 7, 79,1 ppm), pero muy diferente del reseñado para el epímero 15S (75,5 ppm) (163).

Todos los datos anteriores establecen la estructura y configuración relativa del leucophleol como la de la fórmula 43, y la esteoquímica absoluta representada en ella se determinó por simple aplicación del método de Horeau (97-102), de desdoblamiento parcial de racémicos, al compuesto 44. Los resultados obtenidos establecen como R la configuración absoluta del hidroxilo ecuatorial de C-1, y por tanto el leucophleol pertenece a la serie normal, siendo su estructura completa la de 1 β , 15R, 16-trihidroxi-pimar-8(14)-eno (43).

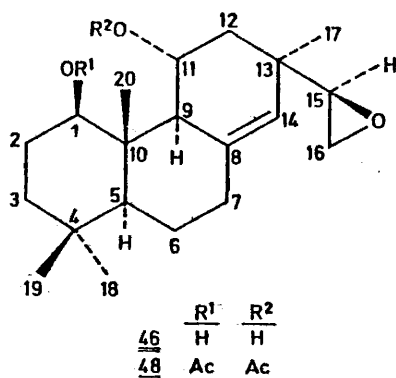
II.3.2. Estructura del nuevo diterpenoide leucophleoxol

El segundo de los diterpenoides aislados de la Acacia leucophloea es también un producto natural nuevo y se le dió el nombre trivial de leucophleoxol (46)

La fórmula de este diterpenoide es $C_{20}H_{32}O_3$ y su espectro IR (Fig.4) presenta absorciones de hidroxilos fuertemente asociados (3110 cm^{-1}) y de doble enlace olefínico trisustituido ($1670, 865\text{ cm}^{-1}$).

El espectro de RMN protónica (Fig.8) del leucophleoxol es ex-

traordinariamente informativo y su análisis cuidadoso permite establecer una hipótesis muy avanzada sobre la estructura de este diterpenoide.

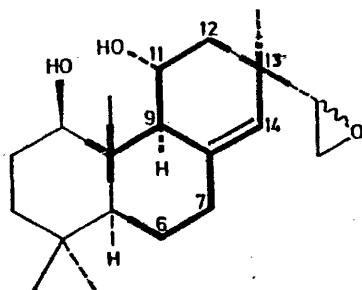


En efecto, el mencionado espectro presenta señales características de un protón olefínico (δ 5,01) carente de protones vecinales ($J_{1/2} = 3$ Hz), de un protón pseudoaxial geminal de un grupo hidroxilo secundario (señal a δ 3,98, de cinco líneas) que podría estar situado en la posición C-11 de un esqueleto de pimar-8(14)-eno con el anillo C en conformación de silla distorsionada, ya que las constan

tes de acoplamiento que presenta ($J_{11\beta,9\alpha} = J_{11\beta,12\beta} = 5,5 \text{ Hz}$, $J_{11\beta,12\alpha} = 11 \text{ Hz}$) son idénticas a las citadas en la bibliografía para estructuras similares (159). Además, en la molécula del leucophleoxol (46) existe otro protón axial geminal también a otro grupo hidroxilo secundario (1H a $3,55\delta$) que, como en el caso del leucophleol (43), debe estar situado entre un carbono sp^3 tetrasustituido y un grupo metileno ($J_{aa} = 8,5 \text{ Hz}$ y $J_{ae} = 6,5 \text{ Hz}$). También aparecen en el espectro de RMN de ^1H del leucophleoxol (Fig.8) unas señales características, por su desplazamiento químico y acoplamientos, de un grupo oxiránico monoalcohilsustituido (1H, señal cuartete, a $2,79\delta$, $J_1 = 4,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$; 2H, señal octete a $2,61\delta$), de un protón alílico ecuatorial acoplado con un metileno contiguo (protón 7β en pimar-8(14)-enos, señal de ocho líneas ensanchadas, $2,28\delta$, $J_{\text{geminal}} = 13 \text{ Hz}$, $J_{ea} = 5 \text{ Hz}$, $J_{ee} = 2 \text{ Hz}$, $J_{\text{alílico}} \approx 1 \text{ Hz}$), del protón H-9 en 11-hidroxi-pimar-8(14)-enos ($2,03\delta$, doblete ancho, $J_{9\alpha,11\beta} = 5,5 \text{ Hz}$, $J_{\text{alílico}} \approx 1 \text{ Hz}$) (159) y, finalmente, de cuatro grupos metilo asentados sobre carbonos totalmente sustituidos (singletes de 3H a $1,04$, $0,98$, $0,86$ y $0,82\delta$).

La interrelación de muchos de los protones que originan las señales anteriormente descritas, se demostró mediante experimentos de doble resonancia, porque al irradiar a un campo de $3,98\delta$ (resonancia

del H-11) el doblete a $2,03\delta$ (H-9) colapsa a singlete ancho, mientras que la irradiación de H-9 (a $2,03\delta$) causa un estrechamiento del protón olefínico ($5,01\delta$, $\nu_{1/2} = 1,5$ Hz) y transforma el quintuplete del protón de C-11 en un cuartete ($J_{11\beta,12\beta} = 5,5$ Hz, $J_{11\beta,12\alpha} = 11$ Hz). Por otro lado, la señal atribuida al protón ecuatorial de H-7 (β) está también acoplada alílicamente con el protón olefínico pues la irradiación de éste ($5,01\delta$) causa un estrechamiento de las ocho líneas del alílico (a $2,28\delta$) y viceversa. Todos los resultados de los experimentos de doble resonancia (esquemmatizados en la Tabla 8) exigen y establecen para el leucophleoxol una estructura parcial como la representada en 47 con trazo grueso.



47

Todos estos datos pueden ser acomodados en la estructura pro-

Tabla 8

Experimentos de doble resonancia con el leucophleoxol (46)

(desplazamientos químicos en δ , J y $\overline{W}_{1/2}$ en Hz)

H-14	H-11	H-9	H-7	
5,01 (<u>s</u> , $\overline{W}_{1/2}=3$)	3,98 (<u>quintuplete</u>)	2,03 (<u>d</u> , ancho)	2,28 (<u>octete</u> , ramas anchas)	Sin irrad.
-----	3,98 (<u>quintuplete</u>)	2,03 (<u>d</u> , afilado)	2,28 (<u>octete</u> , ramas afiladas)	Irrad. 5,1
5,01 (<u>s</u> , $\overline{W}_{1/2}=3$)	-----	2,03 (<u>s</u> , ancho)	2,28 (<u>octete</u> , ramas anchas)	Irrad. 3,98
5,01 (<u>s</u> , $\overline{W}_{1/2}=1,5$)	3,98 (<u>cuartete</u>)	-----	2,28 (<u>octete</u> , ramas anchas)	Irrad. 2,03
5,01 (<u>s</u> , $\overline{W}_{1/2}=2$)	3,98 (<u>quintuplete</u>)	2,03 (<u>d</u> , ancho)	-----	Irrad. 2,28

puesta para el leucophleoxol(46), en el cual la baja absorción en el IR de sus hidroxilos (3110 cm^{-1}) y el pequeño valor de la constante de acoplamiento $J_{11\beta, 9\alpha} = 5,5 \text{ Hz}$, así como la variación de las constantes de acoplamiento del protón axial de C-1 en el leucophle-

oxol ($J_{aa} = 8,5$ Hz, $J_{ae} = 6,5$ Hz) frente a las presentadas por el mismo protón en el leucophleol (43, $J_{aa} = 9$ Hz, $J_{ae} = 6$ Hz), pueden ser racionalizadas considerando que los anillos A y C del nuevo diterpenoide ahora considerado (46) están en conformación de silla ligeramente distorsionada como consecuencia de las interacciones $1\beta\text{-OH} - 11\alpha\text{-OH}$ (159).

Por otro lado, el espectro de RMN de ^{13}C del leucophleoxol (Fig. 11) presenta unos δ_{C} (Tabla 9) en acuerdo completo con la estructura propuesta (46) y las diferencias existentes con el espectro del leucophleol (43, Tabla 7) pueden ser perfectamente racionalizadas por la existencia adicional en el compuesto 46 de un grupo hidroxilo en C-11 y configuración α (105,162,167), por la transformación de la cadena lateral de 1,2-dihidroxietilo en oxirano (168) y por el cambio conformacional del anillo C en la molécula de leucophleoxol, motivado por las interacciones $1\beta\text{-OH} - 11\alpha\text{-OH}$, claramente reflejadas en los desplazamientos químicos de C-1 y C-20 (Tablas 7 y 9).

Todas las conclusiones anteriormente inferidas por estudios espectroscópicos, la estereoquímica en C-15 del anillo de oxirano y la configuración absoluta de la molécula del leucophleoxol, se establecieron con toda firmeza por una serie de reacciones químicas que

Tabla 9

Espectro de RMN de ^{13}C del leucophleoxol (46)
(desplazamientos químicos en ppm desde el TMS)

nº carbono	δ	nº carbono	δ
1	76,0	11	69,3
2	28,1	12	38,2
3	39,8	13	36,8
4	33,1	14	123,6
5	55,1 ^a	15	55,7 ^a
6	24,3	16	44,8
7	36,6	17	24,9
8	139,7	18	33,5
9	59,2	19	21,4
10	47,4	20	12,4

^a Estas asignaciones pueden ser intercambiadas

se reseñan a continuación.

El tratamiento de leucophleoxol (46) con anhídrido acético en piridina conduce a un derivado diacetilado (48), que carece de absorción de -OH en su espectro IR. Luego dos de los tres átomos de oxígeno de la molécula de 46 son hidrofílicos y el otro, por la ausencia de absorciones en la región carbonílica en el espectro IR del

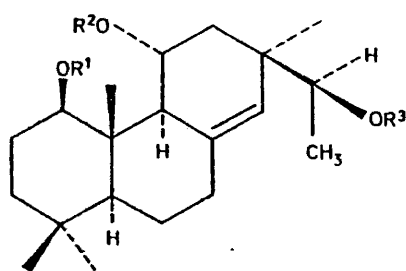
leucophleoxol (46, vide supra), ha de estar implicado en una unión éter.

La reducción del leucophleoxol (46) con hidruro de litio y aluminio produce un triol (49). Esta reacción, unida al hecho de que en el espectro de RMN protónica del triol 49 aparecen señales típicas de un agrupamiento $-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CHOH}-\text{CH}_3$ (3,56 δ , 1H, cuartete, $J= 6,5$ Hz, asignado a H-15, y 1,14 δ , 3H, doblete, $J= 6,5$ Hz, metilo de C-16), confirman plenamente la existencia de una cadena lateral de oxirano en la molécula del leucophleoxol.

Por otro lado, cuando el triol 49 se trata con acetona en presencia de CuSO_4 anhidrido, se obtiene cuantitativamente un derivado acetónido de fórmula 50, ya que cuando este compuesto se trata con anhidrido acético en piridina, se obtiene un monoacetilderivado (51) en cuyo espectro de RMN protónica la señal paramagnéticamente desplazada (4,95 δ) es el cuartete ($J= 6,5$ Hz) asignado al protón de C-15. En consecuencia, el acetónido del compuesto 50 se ha formado entre los dos hidroxilos secundarios pertenecientes al sistema carbocíclico, uno de los cuales se situa en C-11 por razones que se indicarán a continuación y, lógicamente, el otro ha de estar en O-1 para que pueda originarse un derivado como 50.

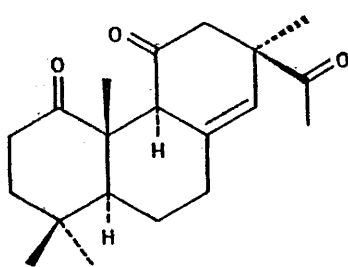
Cuando el triol 49 se somete a oxidación con CrO_3 en piridina

94) se obtiene una mezcla de dos productos (tiempo de reacción 24 horas), fácilmente separables en cromatografía de capa fina preparativa. Uno de estos compuestos, el cromatográficamente menos polar, es la esperada tricetona 52, ya que no presenta absorción de -OH en su espectro IR ni señales en RMN de ^1H de protones geminales de hidroxilo y sí un singlete del agrupamiento $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{CO}-\text{CH}_3$ a $2,20\delta$ (3H). El otro producto de la reacción ha de poseer la estructura 53, ya que su masa molecular (318 g/mol), la absorción de hidroxilo en su espectro IR ($3590, 3450\text{ cm}^{-1}$) y la señal a $3,75\delta$ (1H, cuartete, $J_{aa'} = 9\text{ Hz}$, $J_{ae} = 6\text{ Hz}$) en su espectro de RMN protónica, así lo exigen.

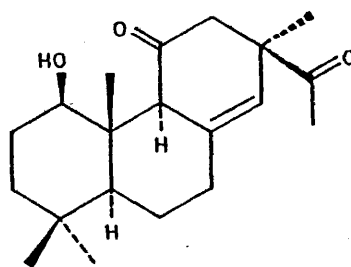


	$\frac{R^1}{H}$	$\frac{R^2}{H}$	$\frac{R^3}{H}$
<u>49</u>	H	H	H
<u>50</u>	-CMe ₂ -	H	H
<u>51</u>	-CMe ₂ -	Ac	H

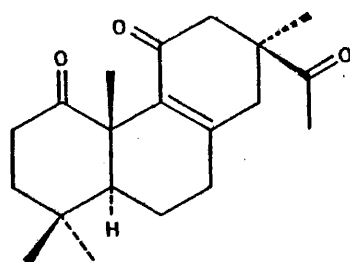
El tratamiento de la tricetona 52 con ácido oxálico en disolución de etanol produce la isomerización del doble enlace olefínico a la posición conjugada ($\Delta^{8(9)}$), obteniéndose el compuesto isomérico 54, que posee un grupo cetónico α, β -insaturado ($\nu_{C=O}$ a 1663 cm^{-1} , $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ a 242 nm , $\epsilon = 6.700$) cuya olefina está tetrasustituida, pues en el espectro de RMN de ^1H del compuesto 54 no aparecen señales a campos inferiores a $3,5\delta$.



52



53



54

Todas las conclusiones anteriormente señaladas sobre la situación del doble enlace en el sistema carbocíclico, junto con la estructura del compuesto 54, y la obtención de derivados como 50, establecen firmemente la estructura y estereoquímica relativas asignadas al leucophleoxol en la fórmula 46.

Finalmente, la aplicación del método de Horeau (97-102) al compuesto 50, establece como 15S la configuración de este centro asimétrico y, en consecuencia, de acuerdo con las reglas de Cahn, Ingold y Prelog (169,170), la estereoquímica del anillo oxiránico en el leucophleoxol es 15R. Cuando el mismo procedimiento (97-102) se aplica sobre el alcohol ecuatorial de C-1 en el derivado 53, se obtiene una configuración absoluta de 1R (1β -OH) para esta función, por lo que el leucophleoxol también pertenece a la serie normal (tipo esteroide) como el leucophleol (43).

Así pues, la estructura del leucophleoxol es 15R,16-epoxi- 1β , 11 α -dihidroxi-pimar-8(14)-eno (46).

Si bien algunos diterpenoides naturales derivados de pimarano o isopimarano poseen cadenas laterales de 1,2-dihidroxietilo (163 y referencias aquí citadas) como el leucophleol (43), el leucophleoxol es el primer ejemplo de un compuesto natural con esqueleto de

pimarano que presenta una cadena lateral 15,16-epoxídica.

II.4. Asignación de los desplazamientos químicos de C-13 a diterpenoides con esqueleto de ent-rosa-5,15-dieno

La utilidad potencial de la resonancia magnética nuclear de ^{13}C para el análisis de las estructuras de las sustancias orgánicas fue plenamente reconocida desde los mismos inicios de esta técnica espectroscópica, pero nada esencial aparece publicado con anterioridad a 1966 y, por otro lado, el 95% de la información actualmente disponible, se ha obtenido desde 1974 al momento presente. El lento crecimiento inicial de la aplicación de la RMN de ^{13}C a la determinación de estructuras orgánicas fué debida a las deficiencias técnicas de los aparatos, pero más recientemente, con la aparición de los equipos comerciales que trabajan con transformada de Fourier y que permiten analizar muestras con abundancia natural de ^{13}C , el auge de la RMN de ^{13}C ha sido realmente espectacular.

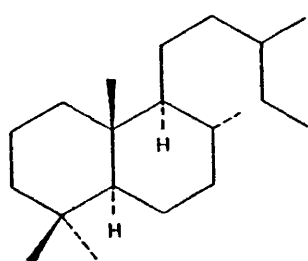
Paralelamente al desarrollo y perfeccionamiento de la instrumentación, se ha deducido ya un considerable cúmulo de parámetros espectrales y, en particular, sus implicaciones estereoquímicas en las sustancias naturales. Hoy día existe un crecido número de datos, obtenidos del estudio de productos de estructuras conocidas, que per-

miten aplicarlos a problemas reales en el análisis de compuestos con estructuras desconocidas (171-173).

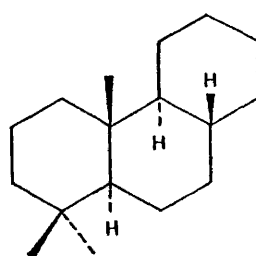
En lo que se refiere a los diterpenoides, éstos han merecido e interés de muchos investigadores y en el momento presente existen referencias abundantes sobre los parámetros de RMN de ^{13}C para la mayoría de los esqueletos hidrocarbonados. Los datos disponibles permiten ya abordar con toda garantía el análisis de las estructuras afines de productos nuevos, tal como se ha hecho en esta misma tesis (II.1.2, II.3.1, II.3.2).

Hasta ahora, existen datos abundantes, y en cierto modo suficientes, sobre diterpenoides con esqueleto de labdano (55) (55,148, 160,174-177), de podocarpano (56) (74,167), de abietano, totarano y sempervirano (57, 58, 59, respectivamente) (74), de pimarano (12) e isopimarano (13) (80,165,178-180), ent-clerodano (60) (67,181-183), ent-kauranos (61) (184-189), ent-beyeranos (62) (161,190,191), ent-atisanos (63) (191-193), ent-trachilobanos (64) (194,195) y gibberellinas (esqueleto de gibbano 65) (196-198).

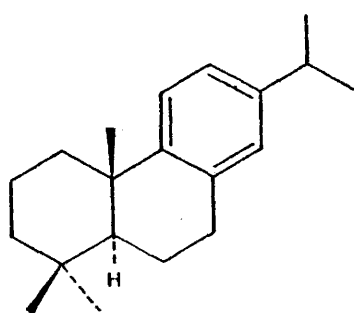
A pesar de la abundancia de estudios de resonancia magnética nuclear de ^{13}C realizados sobre compuestos diterpénicos, aún quedan por investigar de una manera sistemática algunos de los esqueletos



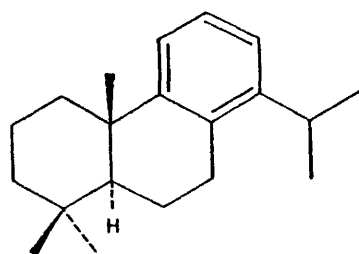
55



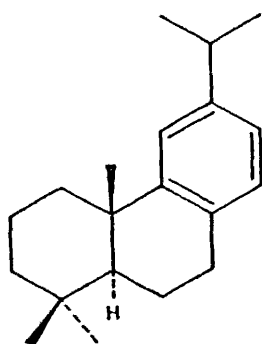
56



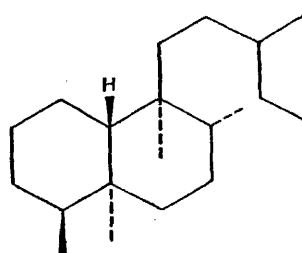
57



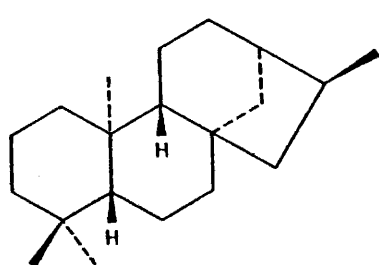
58



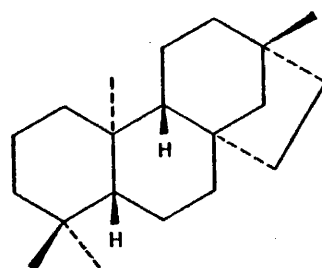
59



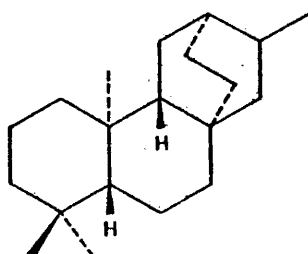
60



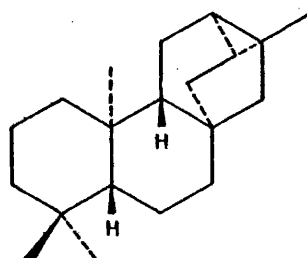
61



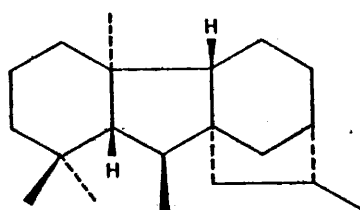
62



63

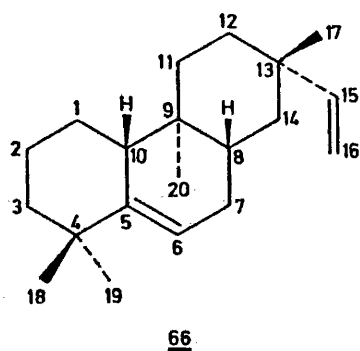


64



65

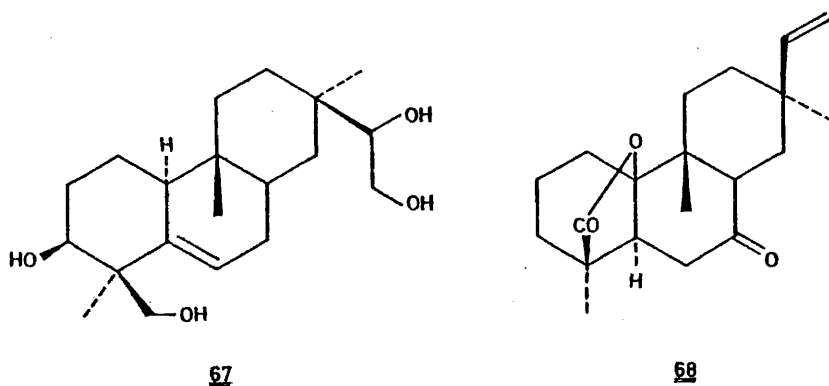
hidrocarbonados de estas sustancias, y entre ellos se cuenta el de ent-rosa-5,15-dieno (ent-5,8-friedopimara-5,15-dieno) (66).



II.4.1. Antecedentes bibliográficos, justificación y planteamiento

Como se señalaba anteriormente, el estudio sistemático en RMN de ^{13}C de diterpenoides con esqueleto de ent-rosa-5,15-dieno (66) no ha sido realizado todavía. Sin embargo, existen algunos datos aislados sobre limitadas sustancias diterpénicas que responden a este esqueleto, tales como el diterpenoide jesromotetrol (67) (199,200) o la rosenonolactona (68) (201) y el rimueno (69, epímero en C-13

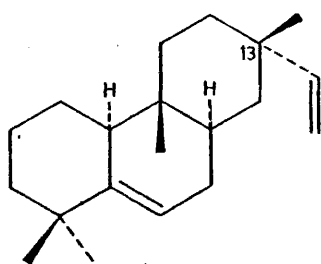
del compuesto 66) (202), haciéndose de este último producto sólo una asignación parcial.



Es evidente que ante la falta de datos sistematizados sobre la RMN de ^{13}C de derivados de ent-rosa-5,15-dieno, una investigación en este sentido estaba plenamente justificada a priori, ya que el conocimiento de los δ_{C} del hidrocarburo base (66) y la influencia de diversos sustituyentes oxigenados sobre dichos desplazamientos químicos, puede proporcionar una serie de datos extraordinariamente útiles para el establecimiento de las estructuras de nuevas sustancias pertenecientes a este esqueleto hidrocarbonado.

Por otro lado, en el laboratorio de Productos Naturales del

Instituto de Química Orgánica General, se disponía de muestras suficientes de dos diterpenoides derivados de ent-rosa-5,15-dieno (66):



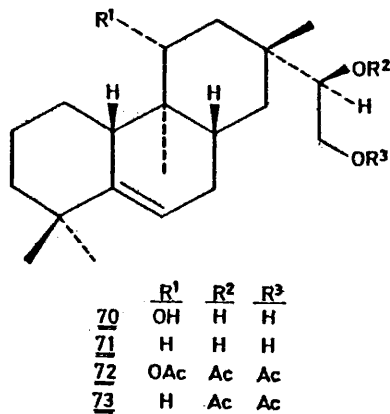
69

el lagascatriol(70) y el lagascol (71), cuyas estructuras se encuentran firmemente establecidas (126,133 y referencias aquí citadas).

Desgraciadamente, tanto el compuesto 70 (lagascatriol) como el 71 (lagascol), son muy poco solubles en CDCl_3 , y por ello hubo de recurrirse a sus derivados acetilados (72 y 73, respectivamente) para obtener buenos espectros de RMN de ^{13}C en un tiempo prudencial de registro.

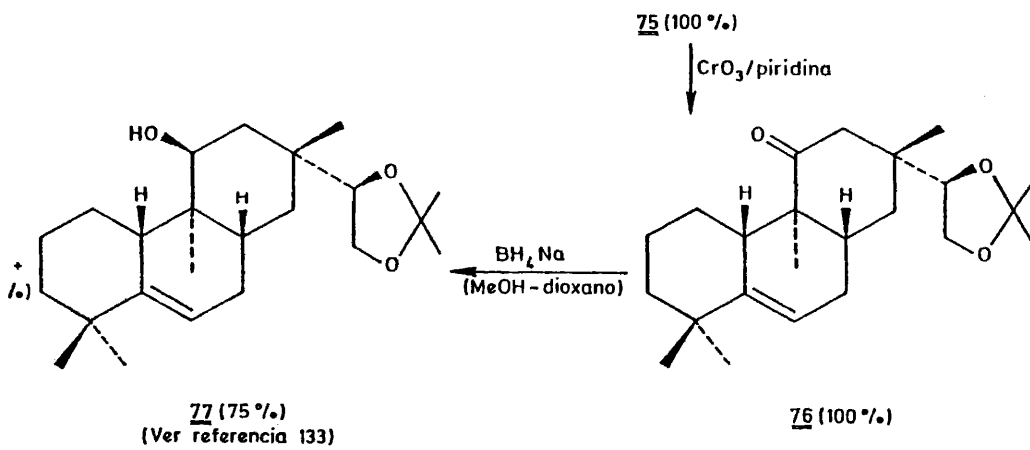
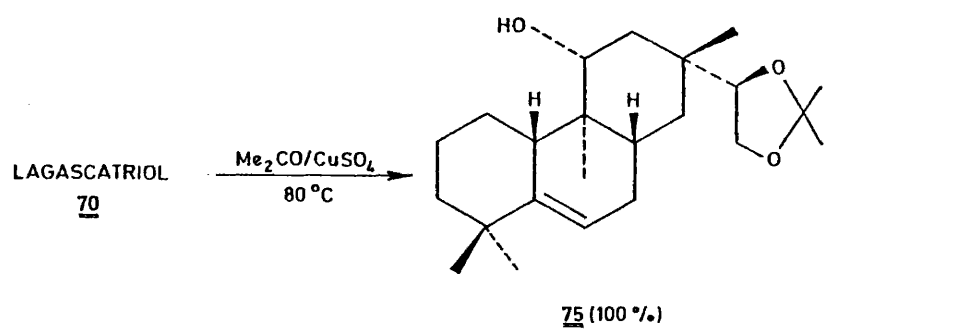
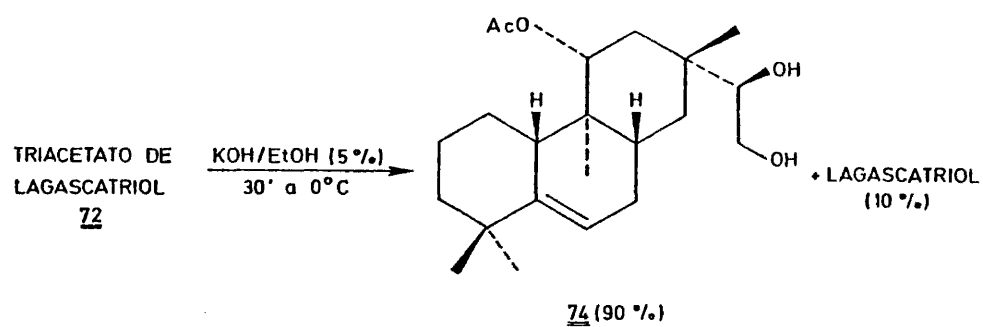
Asimismo, para poder atribuir cada una de las resonancias a los diferentes carbonos del esqueleto, se consideró que con la prepara-

ción de los derivados 74 a 77 (obtenidos según se indica en el Esquema II) sería, en principio, suficiente. Por otro lado, la obtención de los derivados 78 y 66 (hidrocarburo base), también necesarios pa

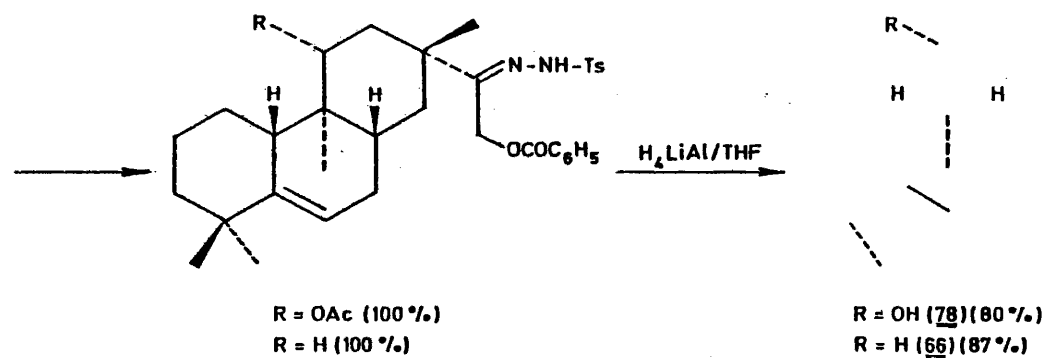
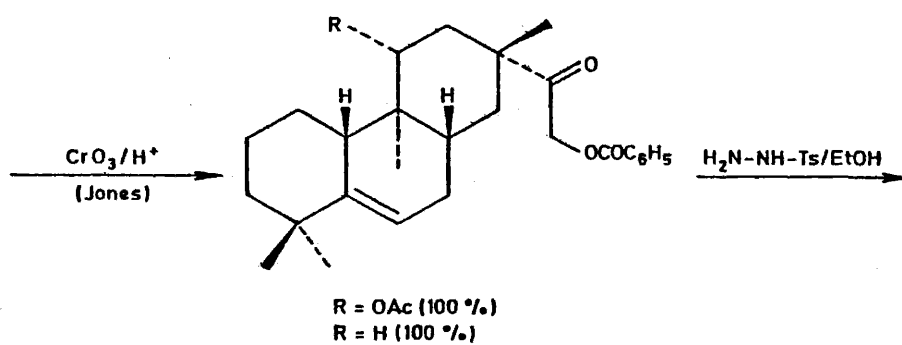
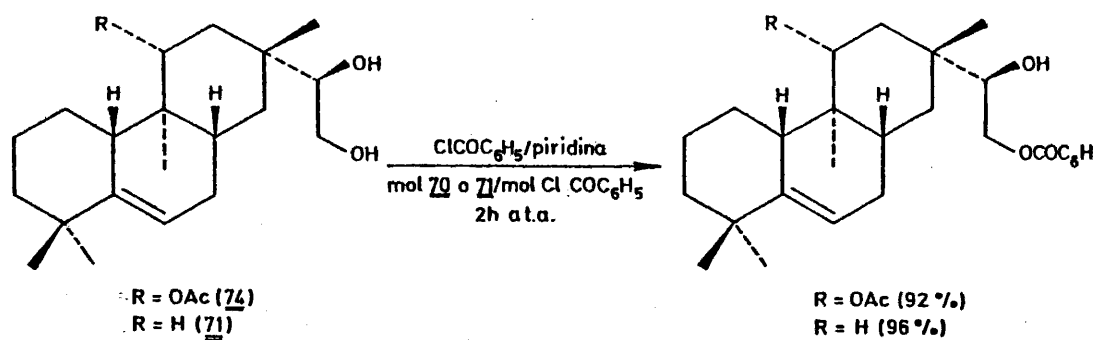


una asignación inequívoca de las resonancias de los carbonos y, además, para poder sistematizar las influencias de los distintos sustituyentes sobre los δ_C del esqueleto hidrocarbonado, presentó alguna dificultades iniciales, ya que la transformación directa de cadenas

Esquema II



Esquema III



de 1,2-dihidroxietilo a vinilos por el procedimiento reseñado recientemente en la bibliografía (203) para sistemas 1,2-glicólicos, no dió ningún resultado positivo al ser aplicado al lagascol (71) y al lagascatriol (70). Por ello, los compuestos 78 (ent-11 β -hidroxi-rosa-5,15-dieno) y el hidrocarburo ent-rosa-5,15-dieno (66) se obtuvieron tal como se representa en el Esquema III, utilizando una modificación (204) de la reacción de Bamford-Stevens (205,207).

II.4.2. Asignación de los δ_c al hidrocarburo básico ent-rosa-5,15-dieno y a algunos de sus derivados

La Tabla 10 reúne las asignaciones de los desplazamientos químicos de los carbonos en los compuestos 66 (hidrocarburo base) y 72 a 78.

Las asignaciones de los desplazamientos químicos en cada uno de los compuestos se han hecho con la ayuda del dato de la multiplicidad de la señal en los espectros desacoplados en "off resonance", por la comparación de pares de compuestos, en base a consideraciones de efectos α , β , γ y δ de los diversos sustituyentes y, también, con la ayuda de los datos aportados por la bibliografía en estructu-

Tabla 10

Desplazamientos químicos (en ppm desde el TMS) del
ent-rosa-5,15-dieno (66) y algunos de sus derivados

Carbono	<u>66</u>	<u>78</u>	<u>73</u>	<u>72</u>	<u>74</u>	<u>75</u>	<u>77</u>	<u>76</u>
1	26,5	30,8	26,5	30,4	30,4	30,8	25,7	28,9
2	21,9	22,4	21,9	22,3	22,3	22,4	21,8	21,8
3	40,8	40,9	40,7	40,7	40,7	40,9	40,7	40,9
4	36,3	36,3	36,5	36,3	36,3	36,3 ^a	35,9	36,2
5	145,7	146,6	145,6	146,1	146,2	146,6	145,7	146,2
6	116,2	115,6	116,0	115,5	115,5	115,4	115,4	114,4
7	30,2	29,4	29,3	29,0	29,2	29,4	30,5	28,9
8	36,1	36,3	35,6	35,8	35,9	35,7	29,4	37,7 ^a
9	34,7 ^a	40,5	34,6	39,3	39,4	40,5	38,7	49,1
10	47,3	47,1	47,1	46,0	46,1	46,9	38,0	38,5 ^a
11	34,3	77,9	33,6	78,3	80,2	77,6	72,2	214,7
12	32,4	38,6	30,2	34,8	34,6	35,5	34,7	43,7
13	35,8 ^a	37,3	35,8	37,3	37,5	36,4 ^a	34,7	40,9
14	39,1	42,5	36,2	35,8	35,8	38,7	36,5	35,7
15	151,3	149,8	79,2	79,2	80,2	84,0	84,8	82,8
16	108,4	108,9	63,0	62,7	62,3	64,4	64,3	64,3
17	22,4 _b	23,7	18,5	19,6	19,8	20,0 _b	22,5	20,2 _b
18	29,3 _b	28,6 ^a	29,1 ^a	28,4 ^a	28,4 ^a	28,5 _b	29,6 ^a	28,7 _b
19	29,7 _b	30,0 ^a	29,7 ^a	29,9 ^a	29,9 ^a	30,0 _b	29,7 ^a	29,6 _b
20	12,4	5,9	12,3	7,2	7,2	5,9	12,8	12,2
11-OAc(CO)	-	-	-	170,1	170,5	-	-	-
(CH ₃)	-	-	-	21,6	21,7	-	-	-
15-OAc(CO)	-	-	170,6 ^b	170,3 ^b	-	-	-	-
(CH ₃)	-	-	20,9 ^c	20,8 ^c	-	-	-	-
16-OAc(CO)	-	-	170,3 ^b	170,1 ^b	-	-	-	-
(CH ₃)	-	-	20,8 ^c	20,7 ^c	-	-	-	-
-CMe ₂ - (C)	-	-	-	-	-	108,5	108,5	108,8
(Me)	-	-	-	-	-	26,2	26,2	26,2
(Me)	-	-	-	-	-	25,0	25,1	25,0

^{a, b, c} Estos valores pueden ser intercambiados dentro de una misma columna.

ras relacionadas (199-202).

La asignación de los δ_C a los carbonos olefínicos C-5, C-6 (compuestos 72 a 77) y de éstos y los de C-15 y C-16 en las sustancias 66 y 78 es directa, sin más que observar los espectros desacoplados en "off-resonance": C-5 (singlete), C-6 (doblete), existentes en todos los compuestos, y C-15 (doblete) y C-16 (triplete), sólo presentes en los derivados 66 y 78.

Las asignaciones de los carbonos hidroxilados se hacen en base a la multiplicidad que presentan en los espectros desacoplados en "off-resonance", en la comparación de los desplazamientos químicos en parejas de compuestos y en los desplazamientos inducidos por el cambio de la funcionalidad (hidroxilo, acetoxilo, cetona, acetónido). De la comparación de los diferentes acetatos se deduce, asimismo, el δ_C más probable para cada uno de los grupos acetoxilos.

Los carbonos C-2, C-3, C-4, C-7, C-13 y C-14 se asignan por similitud con otras estructuras descritas en la bibliografía (vide supra) y por la constancia de su valor (C-2, C-3, C-4, C-7) en todos los compuestos aquí estudiados, o porque los cambios estructurales efectuados (cadena lateral de 1,2-dihidroxietilo o vinílica) dan cuenta satisfactoriamente de la variación observada (resonancias del carbono C-13 y del carbono C-14, este último presenta un claro efec-

to " γ -gauche" cuando en C-15 hay un hidroxilo, ver Tabla 10 en los compuestos 66 y 78 y el resto de los derivados).

El singlete del carbono C-9 es facilmente asignable, ya que sobre él actúa un efecto β en el caso de los compuestos 72, 74-78 y, en consecuencia, aparece a campos más bajos que en las sustancias 66 y 73. Esta variación sirve también para discriminar la señal de este carbono (singlete) de las debidas a C-4 y C-13 (también singletes).

La asignación de los desplazamientos químicos del carbono C-1 son también muy fáciles de realizar, ya que en los derivados que presentan una función oxigenada sobre el carbono C-11, el desplazamiento químico de C-1 varía al cambiar la naturaleza de ésta (compuestos 77 ó 75 comparados con 76) y su configuración (derivados epímeros 75 y 77), o aparece desapantallado cuando en C-11 no existe sustitución oxigenada (compuestos 66 y 73), en pleno acuerdo con resultados anteriormente publicados para estructuras similares (160-162) en las que existen funciones oxigenadas sobre el carbono C-1 y se observan, en los desplazamientos químicos del carbono C-11, variaciones paralelas a las que presentan los diversos compuestos recopilados en la Tabla 10.

Los δ_C del carbono C-12 son también fácilmente asignables, ya

que sobre él actúan efectos β del sustituyente de C-11 y, además, efectos " γ -gauche" del hidroxilo de C-15, por lo que las variaciones estructurales en los diversos derivados de ent-rosa-5,15-dieno de la Tabla 10, junto con los argumentos generales sobre desplazamientos químicos, permiten atribuir en cada caso el δ_C del átomo C-12.

Respecto a las dos señales de los carbonos C-8 y C-10 (ambas dobletes en los espectros desacoplados en "off-resonance"), se asignaron en base a que un grupo cetónico en C-11 (compuesto 76) ejerce un fuerte efecto apantallante sobre el carbono γ "cisoide" con el carbonilo (carbono C-10) y no con el átomo de carbono γ "transoide" (carbono C-8) (208). Como quiera que los dos dobletes de C-10 y C-8 están netamente diferenciados por sus desplazamientos químicos en todos los compuestos (diferencias superiores a 10 ppm) excepto en el derivado cetónico 76, donde aparecen casi superpuestos (ver Tabla 10), es evidente que el doblete que resuena a campo más bajo ha de ser el de C-10. A una conclusión idéntica se llega cuando se consideran los efectos γ que ejerce sobre los carbonos C-8 y C-10 el grupo hidroxilo de C-11 en los compuestos epiméricos 75 y 77.

Finalmente, en cuanto a la asignación de los cuatro cuartetos debidos a los grupos metilos, ésta no ofreció dificultad alguna, por-

que la del C-20 está claramente señalada por la variación de su δ_C en función de la existencia o no de sustituyente oxigenado sobre C-11 (fuerte efecto " γ -gauche" de -6,5 ppm entre los derivados 66 y 78), mientras que el metilo axial de C-17 debe resonar a campos muy parecidos a los que se citan para otros compuestos diterpénicos (~ 22 ppm (80) y, además, variar a campos más fuertes por el efecto γ de sustituyentes oxigenados sobre C-15 (de 22,4 ppm en 66 a, por ejemplo, 18,5 ppm en el derivado 73). Asimismo, los dos metilos asentados sobre C-4 (C-18 y C-19), debido a la existencia de un doble enlace en Δ^5 , han de resonar a campos de aproximadamente 28-30 ppm (175) y aunque, como indica la Tabla 10, los valores que se asignan pueden ser intercambiados, hemos creído que el carbono C-18 (que es el "cuasi" axial) debe ser el que resuene siempre a campos más altos que el C-19 ("cuasi" ecuatorial).

Tomando los datos de la Tabla 10, es evidente que de ellos pueden deducirse de inmediato los efectos que, sobre los desplazamientos químicos de los carbonos del esqueleto de ent-rosa-5,15-dieno, ejerce un hidroxilo ecuatorial en C-11 (comparar 66 y 78 ó 73 y 72), una función cetona en el mismo carbono (76, 73 y 72), un hidroxilo axial sobre C-11 (compuestos 77, 75 y 73), la transformación de una

adena lateral de vinilo en 1,2-dihidroxietilo (78 y 72 ó 66 y 73)
también los efectos causados por la acetilación de un hidroxilo
cuatorial sobre C-11 o en C-15 y C-16 (74 y 72), así como la influen-
cia de un derivado de acetónido sobre estas dos últimas funciones
(75 y 74) (ver Tabla 10).

A la vista de todos estos resultados, puede concluirse que en
el esqueleto hidrocarbonado de ent-rosa-5,15-dieno no se han detec-
ado efectos usuales en los desplazamientos químicos de los carbo-
nos que lo integran. Todos los resultados experimentales están en
pleno acuerdo con las teorías de RMN de ^{13}C y sólo cabe destacar el
campo extraordinariamente alto (5,9 ppm) a que resuena el carbono
-20 en los compuestos 75 y 78, que se debe en gran parte al efecto
"γ-gauche" del grupo acetoxilo de C-11 y, también, a fenómenos de
compresión estérica, dada la posición que ocupa en la molécula el
referido átomo de carbono.

III.- PARTE EXPERIMENTAL

III.1. Técnicas generales utilizadas

Los puntos de fusión han sido determinados en un aparato modelo Kofler y no están corregidos.

Las rotaciones específicas, $[\alpha]_D$, se han medido en un aparato POLARIMETER 141 de Perkin-Elmer, en células de 1 dm. de longitud y en los disolventes y a concentraciones que se expresan en cada caso.

Los espectros en el IR se han realizado entre cristales de NaCl o en pastilla de KBr, según los casos, y en espectrofotómetro modelo 257, de Perkin-Elmer.

Los espectros de UV se registraron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo 350, en disolución de EtOH o MeOH y células de cuarzo de 1 cm. de espesor.

Los espectros de RMN protónica se obtuvieron con la ayuda de un aparato de 60 MHz, modelo R-12 de Perkin-Elmer, o con un Varian XL-100 de 100 MHz, empleando deuterocloroformo como disolvente y tetrametilsilano como referencia interna ($\delta_{TMS} = 0,00$).

Los espectros de RMN de ^{13}C se registraron en un Varian XL-100 equipado con un accesorio Nicolet TT-100 PFT. Los espectros se regis-

traron a la frecuencia base de 25,2 MHz sobre una anchura de espectro de 6 KHz con un disolvente (CDCl_3) que proporciona el "lock" interno de deuterio. Se recogieron un total de 8K puntos de referencia en el FID. La duración del pulso fué de 10,0 μ s y el tiempo de espera entre ellos fué de 1,3 s, para dar tiempo de adquisición a los carbonos que relajan más lentamente. El espectro totalmente desacoplado se obtuvo situando la onda de desacoplamiento en la mitad del espectro de protones y los de "off-resonance" situándola a 300 Hz por encima del TMS. Todas las muestras reseñadas en el apartado II.4. se prepararon a disoluciones 0,3M en CDCl_3 , en tubos de 12 mm de diámetro. La temperatura de la sonda en cada caso fué de 37°C y los desplazamientos químicos se hallan ajustados a valores de $\pm 0,05$ ppm.

Los análisis de combustión se han realizado con la ayuda de un analizador automático, en nuestro Instituto.

Los espectros de masas se registraron en un aparato Perkin-Elmer RMU-6MG empleando la técnica de inyección directa de la muestra.

Para las cromatografías en columna se ha utilizado como adsorbente silicagel 0,063-0,200 mm (Merck, nº 7734) y se han desarrollado por la técnica de "columnas secas" (209).

Para las placas analíticas de las cromatografías de capa fina, se han empleado placas comerciales Merck (DC-Alufolien, Kiesegel

60 F₂₅₄, nº 5554) y las preparativas se hicieron sobre placas de vidrio empleando como adsorbente silicagel 60 PF₂₅₄ (Merck, nº 7747) con un espesor de 2 mm. En las placas analíticas el revelado se realizó por pulverización con "oleum" (H₂O: H₂SO₄: AcOH, 32: 8: 160) y posterior calentamiento de la placa a 100°C durante tres minutos. El revelado de las placas preparativas se realizó por pulverización con disolución al 0,2% en EtOH de 2',7'-diclorofluoresceína y posterior observación a la lámpara UV de 254 nm (bandas amarillas de los productos sobre fondo verdoso).

III.2. Diterpenos de Cleonia lusitanica

III.2.1. Extracción y separación de los componentes diterpénicos

El material vegetal con el que se realizó el estudio de los diterpenoides procedía del Puente de San Pedro, cerca de Molina de Aragón (Guadalajara), y se utilizaron plantas totales en buen estado de floración.

Cleonia lusitanica seca y finamente pulverizada (1 kg) se extrajo tres veces con Me_2CO (8 l) a temperatura ambiente durante tres días. Se filtraron los líquidos orgánicos y se concentraron a sequedad bajo presión reducida y baja temperatura (25°C). Posteriormente, el residuo dejado en la evaporación de la acetona, se disolvió en AcOEt y se lavó con H_2O . La disolución orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, filtró y evaporó a sequedad, dejando un residuo de 32 g. Este residuo se cromatografió sobre una columna de silicagel (desactivada con el 15% de H_2O) de 1,5 kg de adsorbente. La elución con éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-AcOEt (9: 1 y 4: 1) dió una mezcla de ácidos diterpénicos (10,2 g). Esta mezcla se sometió a metilación con diazometano en disolución etérea dando

10,6 g de esteres metílicos, los cuales se cromatografiaron repetidamente sobre silicagel y silicagel más 8% de AgNO_3 con éter de petróleo y éter de petróleo-AcOEt como eluyentes, dando los compuestos siguientes (en orden de crecientes polaridades cromatográficas):

Dehidroabietato de metilo (2,7 g)

Isopimarato de metilo (1,96 g)

Isopimara-8,15-dien-18-oato de metilo (1,2 g)

9 α ,13-peróxido-8(14)-abieten-18-oato de metilo (2,2 g)

Cleonioato de metilo (1,3 g)

III.2.2. Caracterización de los ácidos diterpénicos previamente conocidos

Dehidroabietato de metilo (2).

P.f. 60-63°C (cristalización espontánea), $[\alpha]_D^{18} +49,7^\circ$ ($\pm 0,67$, CHCl_3).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3080, 3050, 1610, 1500, 830 (aromáticos), 1720, 1250 (éster metílico ecuatorial), 2930, 2870, 1435, 1385, 1380, 1175, 1125, 1040, 1030, 990, 970, 905, 890, 880, 840, 760 y 730.

RMN (^1H).— CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.1.1).

RMN (^{13}C).— CDCl_3 , ppm (nº carbono): 38,0 (1), 18,6 (2), 36,7 (3), 47,7 (4), 44,9 (5), 21,7 (6), 30,0 (7), 134,7 (8), 146,9 (9), 37,0 (10), 124,1 (11), 123,9 (12), 145,7 (13), 126,9 (14), 33,5 (15), 24,0 (16), 24,0 (17), 179,1 (18), 16,5 (19), 25,1 (20), -OMe: 51,9.

EM.— 75 eV, m/e (%): 314 (M^+ , 20), 229 (23), 255 (10), 239 (100), 225 (8), 198 (10), 173 (5), 101 (11).

Análisis.— Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$: C, 80,21; H, 9,62%

Encontrado: C, 80,36; H, 9,71%

Idéntico en todo al producto (2) anteriormente descrito (70-74).

Isopimara-7,15-dien-18-oato de metilo (Isopimarato de metilo)

(3).

P.f. 59-61°C (espontáneo al enfriar), $[\alpha]_D^{18}$ -6,7° (c 1,14, CHCl_3).

IR.— $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3090, 1635, 915 (vinilo), 3050, 835 (olefina trisustituida), 1720, 1245 (éster metílico ecuatorial), 2950, 2910, 2870, 2850, 2820, 1430, 1380, 1365, 1185, 1145, 870, 810, 780, 760, 725 y 670.

RMN (^1H).— CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.1.1.).

RMN (^{13}C).— CDCl_3 , ppm (n° carbono): 39,1 (1), 18,1 (2), 37,1 (3), 46,6 (4), 45,3 (5), 25,3 (6), 121,2 (7), 135,6 (8), 52,1 (9), 35,2 (10), 20,1 (11), 36,2 (12), 36,8 (13), 46,2 (14), 150,3 (15), 109,4 (16), 21,5 (17), 179,1 (18), 17,5 (19), 15,3 (20), -OMe: 51,8.

EM.— 75 eV, m/e (%): 316 (M^+ , 40), 301 (30), 287 (26), 269 (8), 257 (70), 256 (72), 241 (100), 277 (25), 201 (20), 187 (50), 173 (24), 159 (23), 148 (29), 145 (28), 133 (42), 121 (55), 119 (55), 109 (50), 105 (59), 101 (15).

Análisis.— Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$: C, 79,70; H, 10,19%

Encontrado: C, 79,63; H, 10,27%

Idéntico en todo al producto (3) anteriormente descrito (78-80).

Isopimara-8,15-dien-18-oato de metilo (5)

P.f. 68-70°C (de MeOH), $[\alpha]_D^{18^\circ} +92,0^\circ$ (c 0,63, CHCl_3).

IR.— $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3090, 1640, 910 (vinilo), 1720, 1260, 1225 (éster metílico ecuatorial), 3000, 2960, 2940, 2870, 1430, 1385, 1120, 1045, 1010, 1002, 858, 760, 725 y 697.

RMN (^1H).— CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.1.1.).

RMN (^{13}C).— CDCl_3 , ppm (n° carbono): 35,8 (1), 18,3 (2), 36,8 (3), 47,8 (4), 46,6 (5), 21,7 (6), 32,0 (7), 124,7 (8), 136,4 (9), 37,1 (10), 21,1 (11), 35,1 (12), 35,1 (13), 42,1 (14), 146,3 (15), 110,9 (16), 27,9 (17), 179,4 (18), 16,6 (19), 19,7 (20), -OMe: 51,8.

EM.— 75 eV, $\underline{m/e}$ (%): 316 (M^+ , 30), 301 (40), 288 (8), 274 (10), 269 (10), 257 (40), 241 (100), 185 (25), 173 (32), 133 (34), 121 (40), 119 (38), 107 (45), 105 (48), 101 (10).

Análisis.— Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$: C, 79,70; H, 10,19%

Encontrado: C, 79,62; H, 10,21%

Idéntico en todo al producto (5) previamente descrito (83,85).

Obtención del isopimara-8,15-dien-18-oato de metilo (5) a partir del isopimara-7,15-dien-18-oato de metilo (3)

35 mg del compuesto 3, disueltos en 15 ml de benceno, y 2 mg de I_2 se calientan a reflujo durante 10 horas. Se diluye la disolución con más benceno (100 ml) y se lava con disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y después con H_2O . La disolución bencénica se seca sobre sulfato sódico anhidro, filtra y evaporan en vacío los disolventes. El residuo, 31 mg, es unitario en placas analíticas de silicagel + AgNO_3 y se alinea con una muestra del compuesto 5. Todas las

constantes físicas y datos espectroscópicos del producto ahora obtenido (p.f., p.f. mixto, $[\alpha]_D$, IR, ^1H RMN y EM) son idénticas a las del compuesto 5.

9 α ,13-Peróxido-8(14)-abieten-18-oato de metilo (7)

P.f. 120-123°C (de MeOH: H₂O), $[\alpha]_D^{18^\circ}$ -64,0° (c 0,63, CHCl₃).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3050, 1650, 825 (olefina trisustituida), 1725, 1260 (ester metílico ecuatorial), 2950, 2880, 1460, 1435, 1395, 1370, 1150, 1115, 1040, 1025, 950, 745 y 690.

UV.- $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 209 nm, ϵ = 2.150.

RMN (^1H).- CDCl₃ (δ): 6,18 (1H, aparente triplete, $W_{1/2}$ = 5 Hz, $J \approx 1,5$ Hz, acoplamiento alílico, H-14), 3,67 (3H, s, -COOMe), singletes de C-Me a 1,30 y 1,09, grupo isopropilo: 0,97 (6H, d, J = 7 Hz).

RMN (^{13}C).- CDCl₃, ppm (nº carbono): 178,2 (18), 144,0 (8), 126,7 (14), 80,6 (9), 78,1 (13), -OMe: 51,8; el resto del espectro (7 tripletes, 2 dobletes, 1 singlete y 4 cuartetes) concordante con la estructura propuesta.

EM.- 12 eV, m/e (%): 348 (M^+ , 1), 316 (100), 301 (98), 241 (76), 148 (50), 105 (35), 101 (3).

Análisis.- Calculado para $C_{21}H_{32}O_4$: C, 72,38; H, 9,26%

Encontrado: C, 72,67; H, 9,16%

Idéntico en todo al producto (7) anteriormente descrito (87,88).

Obtención del dehidroabietato de metilo (2) a partir del diterpenoide 7.

Cuando el compuesto 7 se deja en disolución de cloroformo (Merck espectroscópico deuterado) y TMS, se obtiene, al cabo de tres días, el dehidroabietato de metilo (2) con rendimientos cuantitativos. Esta reacción de deshidrodesoxigenación no tiene lugar con cloroformo estabilizado. El producto obtenido así a partir de 7 es absolutamente idéntico en todo (p.f., p.f. mixto, $[\alpha]_D$, IR y 1H RMN) al compuesto 2.

III.2.3. Estructura del ácido cleonioico

11 α -Acetoxi-7,5-isopimaradien-18-oato de metilo (ester metili-

co del ácido cleonioico) (11)

P.f. 128-130°C (MeOH: H₂O), $[\alpha]_D^{18}$ -16,9° (c 0,92, CHCl₃).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3100, 3070, 3000, 2980, 2960, 2940, 2895, 2880, 2850, 1725, 1640, 1465, 1435, 1390, 1380, 1365, 1255, 1190, 1150, 1055, 1030, 1005, 965, 923, 880, 860, 785 y 675 (Fig.1).

RMN (¹H).- CDCl₃: Ver Parte Teórica (II.1.2.) (Fig.5).

RMN (¹³C).- CDCl₃: Ver Parte Teórica (II.1.2., Tabla 2) (Fig.9).

EM.- 70 eV, m/e (%): 374 (M⁺, 0,2), 314 (100), 299 (50), 273 (45), 255 (55), 254 (45), 239 (95), 211 (40), 199 (45), 185 (45), 146 (40), 143 (45), 131 (55), 109 (50), 105 (55), 101 (20), 91 (60).

Análisis.- Calculado para C₂₃H₃₄O₄: C, 73,76; H, 9,15%

Encontrado: C, 73,58; H, 9,36%

11d-Hidroxi-7,15-isopimaradien-18-oato de metilo (14)

Una disolución del compuesto 11 (500 mg), en KOH etanólica 0,5N, se deja durante seis horas a la temperatura del laboratorio. Después la disolución se diluye con H₂O y se extrae con CHCl₃. El extracto clorofórmico se seca, filtra y concentra a vacío dejando un residuo (410 mg) del compuesto 14 puro.

P.f. 112-115°C (de EtOH: H₂O), $[\alpha]_D^{18} -15,0^\circ$ (c 0,89, CHCl₃).

IR.- ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3430 (OH), 3090, 1725, 1640, 1250, 920.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): Sistema ABX ($\delta_X = 5,80$, $\delta_A = 4,89$, $\delta_B = 4,94$; $J_{AB} = 1,5$ Hz, $J_{AX} = 10,5$ Hz, $J_{BX} = 17,5$ Hz, protones de H-15 y 2H-16), 5,48 (1H, doblete ancho, $J = 5$ Hz, $W_{1/2} = 10$ Hz, H-7), 3,87 (1H, sextete, $J_{aa'} = J_{aa''} = 10$ Hz, $J_{ae} = 4$ Hz, H-11 axial), 3,64 (3H, s, -COOMe), singletes de C-Me a 1,27 (3H-19), 1,05 (3H-20) y 0,88 (3H-17)

EM.- 70 eV, m/e (%): 332 (M^+ , 9), 317 (8), 314 (24), 299 (36), 288 (36), 272 (49), 257 (36), 255 (56), 239 (76), 175 (60), 159 (36), 146 (12), 121 (64), 109 (100), 105 (64), 101 (12), 91 (56).

Análisis.- Calculado para C₂₁H₃₂O₃: C, 75,86; H, 9,70%

Encontrado: C, 75,67; H, 9,63%

Aplicación del método de Horeau al compuesto 14

Una mezcla de anhídrido (\pm)- α -fenilbutírico (0,42 mmol) y compuesto 14 (0,173 mmol) en disolución de piridina (2ml), se deja 20 horas a temperatura ambiente.

$$\alpha_1 = -0,552$$

$$\alpha_2 = -0,772$$

$$\alpha_1 - 1,1 \alpha_2 = +0,297. \text{ Configuración: } 11R$$

7,11-Dioxo-8,15-isopimaradien-18-oato de metilo (16)

A una suspensión de CrO_3 (500 mg) en piridina seca (5 ml) se añaden 300 mg del compuesto 14 disueltos en piridina (5 ml). La mezcla se deja a la temperatura del laboratorio 48 horas y se diluye con H_2O y se extrae repetidamente con Et_2O . Los extractos etéreos se secan y se evaporan a sequedad los volátiles. El residuo se purifica sobre placas preparativas de silicagel (eluyente: éter de petróleo-AcOEt, 7: 3) rindiendo 230 mg de 16.

P.f. 121-123°C (de EtOH: H_2O), $[\alpha]_D^{27} +15,2^\circ$ (c 1,25, CHCl_3).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3090, 1720, 1670 (cetona conjugada), 1640, 1255, 935, 930, 918, 830, 755, 720 y 645.

UV.- $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 266 nm, $\epsilon = 7.800$.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): Sistema ABX ($\delta_X = 5,77$, $\delta_A = 5,03$, $\delta_B = 4,98$; $J_{AB} = 1 \text{ Hz}$, $J_{AX} = 11 \text{ Hz}$, $J_{BX} = 17,5 \text{ Hz}$, protones de H-15 y 2H-16), 3,66 (3H, s, -COOMe), singletes de C-Me a 1,34 (3H-17), 1,26 (3H-19) y 1,04 (3H-20).

RMN (^{13}C).— CDCl_3 , ppm (n° carbono): 37,2 (1), 17,9 (2), 36,2 (3), 46,5 (4), 44,1 (5), 34,4 (6), 200,3 (7)*, 141,9 (8), 154,2 (9), 38,6 (10)** , 200,2 (11)*, 50,7 (12), 37,2 (13)** , 36,8 (14), 144,6 (15), 112,7 (16), 26,3 (17), 177,5 (18), 17,9 (19), 16,3 (20), -OMe: 52,2. Las asignaciones marcadas con uno (*) o dos (**) asteriscos pueden ser intercambiadas.

EM.— 75 eV, m/e (%): 344 (M^+ , 100), 329 (4), 316 (8), 312 (12), 302 (12), 301 (11), 285 (36), 284 (52), 201 (32), 101 (8), 91 (32).

Análisis.— Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$: C, 73,22; H, 8,19%

Encontrado: C, 73,15; H, 8,25%

7,15-Isopimaradien-18-ol (18) a partir de 14

250 mg del compuesto 14 se disuelven en piridina seca (5 ml). A esta disolución, enfriada a 0°C , se añade cloruro del ácido p-toluensulfónico (0,5 g) y la mezcla se deja a la temperatura del laboratorio durante tres días. Después se diluye con H_2O y se extrae con CHCl_3 . La evaporación del disolvente deja un residuo (260 mg) que se purifica en placas preparativas eluidas con éter de petróleo: AcOEt, 9:1, dando 250 mg del tosilato 19, que no se logró cristalizar.

IR.- $\int_{\max}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} : 3080, 1725, 1640, 1600, 1250, 1195, 1180, 920

y 765.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): 7,82 y 7,34 (sistema A_2B_2 , \underline{J} = 8 Hz, 4 protones aromáticos), sistema ABX (parte X: 6 líneas a 5,86, 5,77, 5,75, 5,70, 5,68 y 5,58, H-15; δ_{A} = 4,86, δ_{B} = 4,83; $\underline{J}_{\text{AB}}$ = 1 Hz, $\underline{J}_{\text{AX}}$ = 10,5 Hz, $\underline{J}_{\text{BX}}$ = 17,5 Hz, 2H-16), 5,52 (1H, doblete ancho, \underline{J} = 6 Hz, $\underline{W}_{1/2}$ = 11 Hz, H-7), 4,98 (1H, sextete, $\underline{J}_{\text{aa}}$ = $\underline{J}_{\text{aa}}$ = 10 Hz, $\underline{J}_{\text{ae}}$ = 4 Hz, H-11), 3,64 (3H, \underline{s} , -COOMe), 2,44 (3H, \underline{s} , Ph-Me), singletes de C-Me a 1,24 (3H-19), 1,02 (3H-20) y 0,88 (3H-17).

La reducción del compuesto 19 (200 mg) con H_4LiAl en disolución etérea, 24 horas a temperatura ambiente, da 7,15-isopimaradien-18-ol (18) (95 mg).

P.f. 86-87°C (MeOH: H_2O), $[\alpha]_{\text{D}}^{19}$ -24,2° (\underline{c} 0,47, CHCl_3).

IR.- \int_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3310, 3085, 3005, 2920, 2870, 2855, 1640, 1445, 1385, 1300, 1200, 1155, 1145, 1070, 1050, 1005, 980, 915, 865, 840 y 825.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): Sistema ABX (δ_{X} = 5,91, δ_{B} = 4,97, δ_{A} = 4,93; $\underline{J}_{\text{AB}}$ = 1,5 Hz, $\underline{J}_{\text{BX}}$ = 17,5 Hz, $\underline{J}_{\text{AX}}$ = 10,5 Hz, protones de H-15 y 2H-16), 5,44 (1H, \underline{m} , $\underline{W}_{1/2}$ = 8 Hz, H-7), 3,45 y 3,15 (sistema AB, \underline{J} = 12 Hz, 2H-18), singletes de C-Me a 0,92, 0,89 y 0,88.

EM.- 70 eV, m/e (%): 288 (M^+ , 60), 273 (30), 270 (9), 257 (100), 255 (37), 241 (20), 201 (20), 187 (28), 161 (23), 148 (30), 133 (35), 119 (44), 109 (62), 105 (48), 91 (37).

Análisis.- Calculado para $C_{20}H_{32}O$: C, 83,27; H, 11,18%

Encontrado: C, 83,17; H, 11,21%

El compuesto 18 es absolutamente idéntico en todo al 7,15-isopimaradien-18-ol anteriormente descrito (103,104). Bibliografía: p.f. 85-87°C, $[\alpha]_D^{22}$ -24,6°.

Cuando el compuesto 3 (7,15-isopimaradien-18-oato de metilo) se reduce con H_4LiAl , se obtiene cuantitativamente un compuesto, absolutamente idéntico al producto 18 (p.f., p.f. mixto, $[\alpha]_D$, IR, 1H RMN, EM, Rf en cromatografía de capa fina con diversos eluyentes).

III.2.4. Análisis de la fracción diterpénica en Cleonia lusitanica de diversas procedencias

Las muestras de Cleonia lusitanica de las diversas procedencias (ver Tabla 3, II.1.3) se dejaron secar a t° ambiente y, una vez pulverizadas, se extraen en Soxhlet con acetona durante 8 horas. Se evaporó la acetona a sequedad y el residuo, disuelto en Et_2O , se



trata con exceso de disolución etérea de diazometano durante 1 hora. Se vuelve a evaporar a sequedad y el residuo, disuelto en CHCl_3 , se analiza en cromatografía de gases comparando con muestras puras de componentes diterpénicos de la planta (en forma de esteres metílicos).

Aparato: Cromatógrafo Perkin-Elmer 3920

Columna: L-28, 33 m longitud y 0,2mm de diámetro interior, relleno de polidimetilsilosano, ligado al vidrio (210).

Temperatura columna: 180°C

Temperatura inyector: 260°C

Presión de $\text{N}_2 = 1,8 \text{ kg/cm}^2$

Los resultados obtenidos con cada una de las muestras se encuentran recopilados en la Tabla 3 (II.1.3) de la Parte Teórica.

Tiempos de retención de esteres metílicos en las condiciones analíticas descritas:

	<u>t.r (minutos)</u>
8,15-Isopimaradien-18-oato de metilo (<u>5</u>)	4,7
Isopimarato de metilo (<u>3</u>).....	5,6
Dehidroabietato de metilo (<u>2</u>).....	6,0
Cleonioato de metilo (<u>11</u>).....	10,2

III.3. Diterpenoides de Sideritis chamaedryfolia

Partes aéreas de S. chamaedryfolia, secas y finamente pulverizadas (8 kg), se extraen con éter de petróleo y el extracto se manipula como se describe en la referencia (55). Las fracciones cromatográficas que contienen al diterpenoide siderol (21), una vez cristalizado este compuesto, dejan unas aguas madres que en cromatografía de capa fina revelan la presencia de grandes cantidades del compuesto cristalizado junto con una tenue mancha más polar (silicagel, C_6H_6 -AcOEt, 1: 1, como eluyente). La cromatografía sobre columna de sílice + 8% de $AgNO_3$ del total de sustancia contenida en estas aguas madres (630 mg) da sucesivamente, al ser eluida con éter de petróleo y cantidades crecientes de AcOEt, 550 mg de siderol (21) y 72 mg del nuevo diterpenoide (33).

III.3.1. Estructura del ent-11 β , 18-dihidroxi-kaur-15-eno

ent-11 β , 18-Dihidroxi-kaur-15-eno (33)

P.f. 183-185°C (acetona: n-hexano), $[\alpha]_D^{20} -5,0^{\circ}$ (c 0,26, EtOH)

(ver también Parte Teórica, Tabla 6).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3615, 3290, 3040, 2995, 2935, 2860, 1650, 1485, 1475, 1450, 1390, 1375, 1350, 1265, 1215, 1170, 1145, 1075, 1050, 1040, 1030, 1010, 1003, 960, 935 y 825 (Fig.2).

RMN (^1H).- CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.2.2) (Fig.6).

EM.- 70 eV, m/e (%): 304 (M^+ , 12), 289 (3), 286 (25), 273 (8), 271 (6), 269 (2), 268 (2), 261 (13), 255 (10), 248 (12), 215 (12), 159 (14), 147 (15), 133 (24), 123 (27), 121 (28), 119 (31), 105 (100).

Análisis.- Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$: C, 78,89; H, 10,59%

Encontrado: C, 78,65; H, 10,47%

ent-11 β ,18-Diacetoxi-kaur-15-eno (34)

10 mg del compuesto natural (33) se dejan con 0,5 ml de Ac_2O y 0,5 ml de piridina durante un fin de semana a la temperatura del laboratorio. Evaporando a vacío los volátiles, se obtiene el diacetato 34 (10 mg) en forma de sirupo.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -4,7^\circ$ (c 0,19, CHCl_3).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} : 3030, 3000, 1745, 1650, 1240 y 823.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): 5,39 (1H, aparente doblete de triplete,

H-11), 5,16 (1H, s ancho, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-15), 3,76 (sistema AB, $J = 11,3$ Hz, 2H-18), 2,07 y 2,01 (3H cada señal, s, dos acetoxilos), 1,72 (3H, d, $J = 1,5$ Hz, 3H-17), singletes de C-Me a 1,30 (3H-20) y 0,83 (3H-19).

ent-11 β , 18-Dihidroxi-16S-kaurano (39)

El compuesto 33 (40 mg) se hidrogena en disolución de EtOH con Pd/C al 10% como catalizador, durante 10 horas a temperatura ambiente y presión atmosférica. Se obtienen 39 mg del producto hidrogenado 39.

P.f. 167-168°C (acetona: n-hexano), $[\alpha]_D^{20} -35,62$ (c 0,24, EtOH) (ver también Parte Teórica, Tabla 6).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3340, 3000, 2930, 2870, 1450, 1380, 1040, 1025 y 935.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): Ver Parte Teórica (II.2.2), 3,72 (sistema AB, $J = 11,3$ Hz, 2H-18), 0,76 (3H, s, 3H-19).

EM.- 70 eV, m/e (%): 306 (M^+ , 2), 291 (1), 288 (3), 275 (84), 257 (100), 187 (24), 175 (42), 121 (57), 119 (21), 109 (63).

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$ requiere M^+ a m/e 306.

ent-11 β ,18-Diacetoxi-16S-kaurano (40)

El tratamiento del compuesto 39 (5 mg) con Ac₂O-piridina de la manera habitual, conduce al ent-11 β ,18-diacetoxi-16S-kaurano (40), que es un sirupo que no se logró cristalizar.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): 5,36 (1H, dos aparentes tripletes, $W_{1/2}$ = 26 Hz, H-11), 3,70 (sistema AB, J = 11 Hz, 2H-18), 2,03 y 2,00 (3H cada señal, s, dos -OAc), 1,05 (3H, d, J = 6 Hz, 3H-17), singletes de C-Me a 1,26 (3H-20) y 0,83 (3H-19).

La sustancia 40 es unitaria en cromatografía de gases (columna capilar de vidrio de 20 m de longitud y 0,2 mm de diámetro, fase estacionaria de dimetilsilicona ligada a la pared interior del vidrio, t_R 225^o) (210).

ent-11 β -Hidroxi-16S-kaurano (41) a partir de 39

20 mg del compuesto 39 (0,0654 mmol) se disuelven en piridina anhidra (1 ml) y a esta disolución, enfriada a 0°C, se añaden 0,08 mmol (15 mg) de cloruro de tosilo, dejándose a la temperatura del laboratorio durante un fin de semana. Se diluye con H₂O (10 ml) y

se extrae con 5x5 ml de CHCl_3 , lavándose los extractos clorofórmicos con HCl 0,5N y con H_2O . La evaporación del cloroformo rinde 21 mg de un producto unitario en cromatografía de capa fina (silicagel, éter de petróleo-AcOEt, 4: 1) (tosilato 42) que, sin caracterización alguna, se disuelve en 5 ml de dioxano seco y, tras añadir a la disolución 150 mg de NaI y 120 mg de Zn en polvo, se mantiene a reflujo durante 72 horas. Se filtra la suspensión y, tras lavar el sólido con más dioxano, se evapora el disolvente a sequedad, dejando un residuo sólido (12 mg) que en cromatografía de capa fina (silicagel, éter de petróleo-AcOEt, 85: 15) da dos manchas, una minoritaria que se alinea con testigo del producto 39 y otra, mayoritaria y menos polar, que se logra purificar sobre una placa analítica Merck (nº 5554) eluyendo con el sistema arriba indicado. El compuesto puro (41, 9 mg) se cristaliza de n-hexano.

P.f. 159-160°C.

RMN (^1H).— CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.2.2.), totalmente idéntico al compuesto previamente preparado por McAlees y McCrindle (150): p.f. 159-159,5°.

III.4. Diterpenoides de Acacia leucophloea

El material vegetal utilizado en este estudio (cortezas de la raíz del árbol) ha sido recolectado en Diciembre de 1977 en las laderas montañosas de los alrededores de Jaipur (estado de Rajasthan), India, y especímenes testigos se hallan depositados en los Laboratorios de Botánica de la Universidad de Rajasthan, con el N^o. 11342.

III.4.1. Extracción y separación de los componentes diterpénicos

La corteza de las raíces de Acacia leucophloea, seca y finamente pulverizada (5 kg), se extrae con C_6H_6 7 días a la t^a del laboratorio y el extracto se concentra a sequedad, dejando 100 g de un aceite espeso, que se cromatografía sobre columna de silicagel (1500 g). La elución con C_6H_6 -AcOEt (4: 1) da leucophleoxol (46, 450 mg) y con C_6H_6 -AcOEt (3: 1) se eluye leucophleol (43, 350 mg).

III.4.2. Estructura del leucophleol

1 β ,15R,16-Trihidroxi-pimar-8(14)-eno (Leucophleol) (43)

P.f. 176-178°C (acetona: *n*-hexano), $[\alpha]_D^{19} +6,5^{\circ}$ (c 0,25, EtOH)

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3290, 3200, 1655, 1090, 1015 y 840 (Fig.3).

RMN (^1H).- CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.3.1) (Fig.7).

EM.- 70 eV, m/e (%): 322 (M^+ , 1), 304 (1), 289 (2), 276 (1), 273 (3), 261 (100), 243 (46), 233 (6), 187 (14), 158 (14), 121 (57), 105 (62), 95 (70), 81 (56).

Análisis.- Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$: C, 74,49; H, 10,63%

Encontrado: C, 74,37; H, 10,69%

1 β -Hidroxi-15R,16-isopropilidendioxi-pimar-8(14)-eno (44)

A una disolución de leucophleol (43) (260 mg) en acetona anhidra (80 ml) se añaden 500 mg de CuSO_4 anhidro y la mezcla se calienta a reflujo durante 12 horas. Se elimina por filtración el sulfato de cobre y la acetona se elimina por destilación a vacío, dejando un residuo (261 mg) del compuesto 44.

P.f. 61-63°C (de *n*-hexano), $[\alpha]_D^{20} +1,9^{\circ}$ (c 0,48, CHCl_3).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}} \text{ cm}^{-1}$: 3490, 1660, 1220, 1170, 870 y 830.

-119 b-

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): 5,30 (1H, s ancho, $W_{1/2} = 4$ Hz, H-14), 3,96-3,38 (4H, dieciseis líneas, H-1, H-15 y 2H-16), 2,28 (1H, ddd, anchos, $J_{\text{gem}} = 14,5$ Hz, $J_{\text{ea}} = 5$ Hz, $J_{\text{ee}} = 2,5$ Hz, $J_{\text{alílico}} \approx 1$ Hz, β H-7), 1,40 y 1,32 (3H cada señal, s, acetónido), singletes de C-Me a 1,01, 0,86, 0,83 y 0,81.

RMN (^{13}C).- CDCl_3 : Ver Tabla 7 (II.3.1) (Fig.10).

EM.- 75 eV, m/e (%): 362 (M^+ , 2), 347 (3), 329 (2), 304 (2), 287 (5), 269 (5), 261 (100), 243 (45), 121 (57), 105 (65), 101 (77), 95 (75), 81 (54).

Análisis.- Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_3$: C, 76,19; H, 10,57%

Encontrado: C, 76,28; H, 10,49%

Aplicación del método de Horeau al compuesto 44

Una mezcla de anhídrido del ácido (\pm)- α -fenilbutírico (0,43 mmol) y compuesto 44 (0,055 mmol), en disolución de piridina (2 ml), se deja a la temperatura del laboratorio durante 16 horas.

$$\alpha_1 = +0,363$$

$$\alpha_2 = +0,282$$

$$\alpha_1 - 1,1 \alpha_2 = +0,053. \text{ Configuración: } \underline{1R}$$

1 β -Acetoxi-15R,16-isopropilidendioxi-pimar-8(14)-eno (45)

El hidroxiacetónido 44 (54 mg) se acetila de la manera habitual para dar, cuantitativamente, el derivado 45 (53 mg).

P.f. 127-129°C (MeOH), $[\alpha]_D^{21}$ +30,7° (c 0,14, CHCl₃).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1730, 1660, 1250, 1165, 1070, 1030, 870 y 830.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): 5,34 (1H, s ancho, $W_{1/2}$ = 4 Hz, H-14), 4,66 (1H, cuartete, J_{aa} = 9 Hz, J_{ae} = 6 Hz, H-1), 3,98-3,54 (3H, sistema ABC, H-15 y 2H-16), 2,03 (3H, s, -OAc), 1,41 y 1,33 (3H cada señal, s, acetónido), singletes de C-Me a 1,02, 0,92, 0,88 y 0,86.

EM.- 70 eV, m/e (%): 404 (M⁺, 0,5), 389 (1), 346 (0,5), 344 (0,2), 329 (2), 303 (18), 302 (14), 269 (7), 261 (3), 243 (100), 227 (4), 121 (23), 101 (97), 81 (28).

Análisis.- Calculado para C₂₅H₄₀O₄: C, 74,21; H, 9,97%

Encontrado: C, 74,33; H, 10,03%

III.4.3. Estructura del leucophleoxol

15R,16-Epoxi-1 β ,11 α -dihidroxi-pimar-8(14)-eno (Leucophleoxol)
(46).

P.f. 185-187°C (acetona: n-hexano), $[\alpha]_D^{20} -131,0^{\circ}$ (c 0,28, EtOH).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3110, 3070, 3005, 2840, 1670, 1064, 1050, 880, 865. y 828 (Fig.4).

RMN (^1H).- CDCl_3 : Ver Parte Teórica (II.3.2) (Fig.8).

RMN (^{13}C).- CDCl_3 : Ver Parte Teórica, Tabla 9 (II.3.2) (Fig.11)

EM.- 75 eV, m/e (%): 320 (M^+ , 3), 305 (3), 302 (8), 287 (7), 284 (5), 271 (100), 269 (8), 257 (15), 119 (68), 105 (99), 91 (53), 81 (53), 69 (60), 55 (63), 43 (62).

Análisis.- Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$: C, 74,96; H, 10,06%

Encontrado: C, 74,95; H, 10,15%

1 β ,11 α -Diacetoxi-15R,16-epoxi-pimar-8(14)-eno (48)

El tratamiento del compuesto 46 (10 mg) con Ac_2O -piridina, de la manera habitual, da el diacetato 48, que no se logró cristalizar

$[\alpha]_D^{19} +17,2^{\circ}$ (c 0,40, CHCl_3)

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}} \text{ cm}^{-1}$: 1725, 1250 y 850.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): 5,13 (2H, señal compleja, H-14 y H-11), 4,56 (1H, cuartete, $J_{\text{aa}} = 10 \text{ Hz}$, $J_{\text{ae}} = 4 \text{ Hz}$, H-1), 2,74-2,43 (3H,

m, H-15 y 2H-16), 2,00 (6H, s, dos -OAc), singletes de C-Me a 1,09 (6H) y 0,87 (6H).

Reducción con H_4LiAl del leucophleoxol (46): $1\beta, 11\alpha, 15S$ -tri-
hidroxi-pimar-8(14)-eno (49)

El compuesto 46 (120 mg), en disolución etérea (30 ml), se reduce con H_4LiAl (200 mg) a la temperatura del laboratorio durante una hora, dando el triol 49 (118 mg).

P.f. 196-198°C (acetona: n-hexano), $[\alpha]_D^{21}$ -93,9° (c 0,37, MeOH).

IR.- ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3320, 3200, 1095, 1060, 910 y 880.

RMN (1H)- $CDCl_3$ (δ): 5,14 (1H, s ancho, $W_{1/2}$ = 5 Hz, H-14), 4,19 (1H, m, $W_{1/2}$ = 18 Hz, H-11), 3,56 (1H, cuartete, J = 6,5 Hz, H-15), 3,59 (1H, cuartete, $J_{aa'}$ = 9 Hz, J_{ae} = 6 Hz, H-1), 1,14 (3H, d, J = 6,5 Hz, 3H-16), singletes de C-Me a 0,99, 0,96, 0,86 y 0,82.

EM.- 75 eV, m/e (%): 322 (M^+ , 0,4), 304 (1), 289 (1), 277 (36), 259 (44), 241 (39), 145 (43), 131 (37), 123 (80), 105 (100), 95 (34), 81 (34), 69 (48).

Análisis.- Calculado para $C_{20}H_{34}O_3$: C, 74,49; H, 10,63%

Encontrado: C, 74,68; H, 10,71%

15S-Hidroxi-1 β ,11 α -isopropilidendioxi-pimar-8(14)-eno (50)

El triol 49 (90 mg) se trata como se ha descrito para el producto 44 (vide supra), dando 90 mg del hidroxiacetónido 50.

P.f. 110-112°C (acetona: n-hexano), $[\alpha]_D^{20}$ -32,4° (c 0,54, CHCl₃).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3300, 1665, 1215, 1170, 1085, 920, 885, 880, 870 y 855.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): 5,13 (1H, s ancho, $W_{1/2}$ = 5 Hz, H-14), 4,35 (1H, ocho líneas, ddd ancho, $J_{11\beta,9\alpha}$ = 12 Hz, $J_{11\beta,12\alpha}$ = 6,5 Hz, $J_{11\beta,12\beta}$ = 4,5 Hz, $J_{\text{alílico}}$ \approx 1 Hz, H-11), 3,57 (2H, señal compleja, H-1 y H-15), 2,31 (1H, ddd ancho, $J_{7\beta,7\alpha}$ = 14 Hz, $J_{7\beta,6\beta}$ = 5 Hz, $J_{7\beta,6\alpha}$ = 2 Hz, $J_{\text{alílico}}$ \approx 1 Hz, H-7 ecuatorial), 1,71 (1H, d, J = 12 Hz, con acoplamiento alílico adicional, H-9), 1,44 (6H, s, acetónido), 1,14 (3H, d, J = 6,5 Hz, 3H-16) y singletes de C-Me a 1,02, 0,94, 0,86 y 0,83.

EM.- 75 eV, m/e (%): M⁺ ausente, 317 (M⁺-CHOHCH₃, cadena lateral, 57), 304 (2), 300 (3), 287 (2), 259 (100), 241 (70), 145 (48),

119 (45), 109 (65), 105 (87), 81 (63), 69 (48).

Análisis.- Calculado para $C_{23}H_{38}O_3$: C, 76,19; H, 10,57%

Encontrado: C, 76,24; H, 10,68%

Aplicación del método de Horeau al compuesto 50

Una mezcla de anhídrido del ácido (\pm)- α -fenilbutírico (0,43 mmol) y compuesto 50 (0,066 mmol) en disolución de piridina (2 ml) se deja a la temperatura del laboratorio durante 20 horas a temperatura ambiente.

$$\alpha_1 = -0,600$$

$$\alpha_2 = -0,403$$

$\alpha_1 - 1,1 \alpha_2 = -0,157$. Configuración: 15S (para el leucophleoxol:

15R).

15S-Acetoxi-1 β ,11 α -isopropilidendioxi-pimar-8(14)-eno (51)

Se obtiene acetilando el compuesto 50 (20 mg) de la manera habitual (20 mg de 51).

P.f. 117-119°C (de MeOH), $[\alpha]_D^{19}$ -68,2° (c 0,43, CHCl₃).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3030, 1737, 1240, 1095, 885, 860 y 820.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): 5,13 (1H, s ancho, $W_{1/2}$ = 4 Hz, H-14), 4,79 (1H, cuartete, J = 6,5 Hz, H-15), 4,32 (1H, ddd, $J_{11\beta,9\alpha}$ = 12,5 Hz, $J_{11\beta,12\alpha}$ = 7 Hz, $J_{11\beta,12\beta}$ = 5 Hz, H-11), 3,56 (1H, cuartete, $J_{1\alpha,2\beta}$ = 10 Hz, $J_{1\alpha,2\alpha}$ = 6,5 Hz, H-1), 2,31 (1H, ddd ancho, $J_{7\beta,7\alpha}$ = 13 Hz, $J_{7\beta,6\beta}$ = 5 Hz, $J_{7\beta,6\alpha}$ = 2 Hz, $J_{7\beta,14}$ ≈ 1 Hz, H-7 ecuatorial), 2,00 (3H, s, AcO-), 1,68 (1H, d ancho, J = 12,5 Hz, $J_{\text{alílico}}$ ≈ 1 Hz, H-9), 1,44 (6H, s, acetónido), 1,15 (3H, d, J = 6,5 Hz, 3H-16), singletes de C-Me a 1,00, 0,98, 0,86 y 0,83.

EM.- 75 eV, m/e (%): 404 (M⁺, 0,3), 389 (0,5), 344 (0,6), 317 (48), 269 (80), 259 (100), 241 (56), 187 (48), 159 (33), 145 (53), 119 (42), 109 (53), 105 (80), 81 (68), 69 (35).

Análisis.- Calculado para C₂₅H₄₀O₄: C, 74,21; H, 9,97%

Encontrado: C, 74,36; H, 10,04%

Tricetona 52 e hidroxiketona 53

A una suspensión de CrO₃ (300 mg) en piridina (3 ml), se añaden 45 mg del triol 49 en disolución de piridina (3 ml). La mezcla se

deja 24 horas a la temperatura del laboratorio y después se diluye con H_2O y se extrae repetidamente con Et_2O . Los extractos etéreos se secan con Na_2SO_4 anhidro y se eliminan los volátiles a sequedad. El residuo dejado es una mezcla de dos compuestos, los cuales se separan fácilmente en placas preparativas de silicagel desarrolladas con $CHCl_3$: MeOH (19: 1), obteniéndose 16 mg del componente menos polar (52) y 12,7 mg del derivado 53.

1,11,15-Triceto-pimar-8(14)-eno (52)

P.f. 97-100°C (de MeOH), $[\alpha]_D^{20} +78,7^\circ$ (c 0,16, $CHCl_3$).

IR.- $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 1700 (fuerte), 1100, 955, 875 y 840.

RMN (1H).- $CDCl_3$ (δ): 5,79 (1H, s ancho, $W_{1/2} = 5$ Hz, H-14), 3,40 (1H, s ancho, $W_{1/2} = 5$ Hz, H-9), 2,20 (3H, s, 3H-16), singletes de C-Me a 1,24, 1,12, 1,10 y 0,92.

EM.- 75 eV, m/e (%): 316 (M^+ , 5), 301 (2), 287 (9), 273 (70), 255 (18), 161 (42), 121 (44), 113 (86), 95 (44), 43 (100).

Análisis.- Calculado para $C_{20}H_{28}O_3$: C, 75,91; H, 8,92%

Encontrado: C, 75,87; H, 9,03%

1 β -Hidroxi-11,15-diceto-pimar-8(14)-eno (53)

P.f. 147-149°C (acetona: n-hexano), $[\alpha]_D^{20}$ -217,2° (c 0,21, CHCl₃).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3595, 3450, 1715, 1690, 1287, 1140, 1050, 1040, 980 y 865.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): 5,53 (1H, s ancho, $W_{1/2}$ = 5 Hz, H-14), 3,75 (1H, cuartete, $J_{1\alpha,2\beta}$ 9 Hz, $J_{1\alpha,2\alpha}$ = 6 Hz, H-1), 2,05 (3H, s, 3H-16), singletes de C-Me a 1,35, 1,03, 0,89 y 0,85.

EM.- 75 eV, m/e (%): 318 (M⁺, 0,6), 303 (1), 300 (0,4), 275 (36), 257 (31), 161 (35), 147 (40), 135 (32), 123 (54), 121 (100), 69 (29), 43 (36).

Análisis.- Calculado para C₂₀H₃₀O₃: C, 75,43; H, 9,50%

Encontrado: C, 75,61; H, 9,46%

Aplicación del método de Horeau al compuesto 53

Se realiza de la manera habitual: 53 (0,036 mmol), anhídrido (\pm)- α -fenilbutírico (0,12 mmol), piridina (2 ml). 20 horas a la temperatura del laboratorio.

$$\alpha_1 = -0,404$$

$$\alpha_2 = -0,458$$

$$\alpha_1 - 1,1 \alpha_2 = +0,100. \text{ Configuración: } 1R$$

1,11,15-Triceto-pimar-8(9)-eno (54).

El compuesto 52 (9 mg) y ácido oxálico (3 mg) en disolución de EtOH (5 ml) se calientan bajo reflujo durante 24 horas. El disolvente se elimina por destilación y el residuo se purifica sobre una placa analítica de Si gel 60 F₂₅₄ (Merck, Art. 5554), dando 6 mg del compuesto 54.

P.f. 137-138°C (AcOEt: n-hexano), $[\alpha]_D^{19} +68,1^{\circ}$ (c 0,066, CHCl₃)

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1703 ancha, 1660, 1630, 1300, 1112, 1030, 1006, 965, 890 y 735.

RMN (¹H).- CDCl₃ (δ): 2,26 (3H, s, 3H-16), singletes de C-Me a 1,58, 1,15, 1,12 y 0,92.

UV.- $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 242 nm, ε = 6.700.

EM.- 75 eV, m/e (%): 316 (M⁺, 40), 301 (6), 273 (89), 260 (41), 255 (26), 242 (16), 232 (7), 217 (58), 199 (45), 175 (74), 161 (64), 147 (40), 113 (77), 43 (100).

Análisis.- Calculado para $C_{20}H_{28}O_3$: C, 75,91; H, 8,92%

Encontrado: C, 76,04; H, 8,91%

III.5. Diterpenoides con esqueleto de ent-rosa-5,15-dieno

Las constantes físicas, datos espectroscópicos y procedimientos de preparación de los compuestos 72, 74, 75, 76 y 77 están ya referidas en la bibliografía química (133), así como las correspondientes al diacetato de lagascol (73) (126).

Respecto a lo que se refiere a la obtención de los derivados 66 y 78 se realizó, partiendo de los diterpenoides 71 y 74 respectivamente, de la forma siguiente:

El compuesto de partida (71 ó 74) se disuelve en piridina y la disolución se enfria a 0°C. A esta disolución se añade cloruro de benzoilo en una relación 1 mol diterpenoide/1,1 moles ClCOC_6H_5 , y se deja a la temperatura ambiente durante 3 horas. Se vierte la disolución sobre agua y se extrae con CHCl_3 . La evaporación de los disolventes deja un residuo (de monobenzoato en el carbinol primario de C-16) que, disuelto en acetona, se oxida, durante 1 hora a temperatura ambiente, con reactivo de Jones (CrO_3/H^+). La masa de reacción se vierte sobre agua y se extrae con cloroformo. Manipulados los extractos clorofórmicos de la manera habitual, dejan un residuo de 15-ceto-16-benzoxi-diterpenoide que se disuelve en EtOH y, tras

añadir un exceso de TsNHNH_2 , se mantiene a reflujo durante 12 horas. El etanol se evapora a sequedad y el residuo, disuelto en THF, se reduce con fuerte exceso de H_4LiAl para dar los diterpenoides con cadena lateral vinílica, que, en este último paso, se purifican por cromatografía sobre placas preparativas.

III.5.1. ent-11 β -Hidroxi-rosa-5,15-dieno (78)

P.f. 99-102° (de n-hexano), $[\alpha]_D^{21}$ -45,4° (c 0,68, CHCl_3).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3290, 3095, 3060, 1640, 1020, 915, 825 y 805.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): H-15 y 2H-16 como un sistema ABX: $\delta_A = 4,91$, $\delta_B = 4,96$, $\delta_X = 5,88$ ($J_{AB} = 2,6$ Hz, $J_{AX} = 10,6$ Hz, $J_{BX} = 18$ Hz), 5,60 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-6), 3,77 (1H, cuartete, $J_{aa'} = 9,3$ Hz, $J_{ae} = 6,6$ Hz, H-11), singletes de C-Me a 1,07 (6H), 1,05 (3H) y 0,70 (3H).

RMN (^{13}C).- CDCl_3 : Ver Tabla 10 de la Parte Teórica (II.4.2.).

Análisis.- Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$: C, 83,27; H, 11,18%

Encontrado: C, 83,31; H, 11,27%

III.5.2. ent-Rosa-5,15-dieno (66).

Se trata de un líquido espeso.

$n_D^{10^\circ} = 1,5137$, $[\alpha]_D^{21^\circ} -42,4^\circ$ (c 1,33, CHCl_3).

IR.- $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} : 3090, 3050, 1640, 915, 870, 830, 820 y 805.

RMN (^1H).- CDCl_3 (δ): H-15 y 2H-16 como un sistema ABX: $\delta_A = 4,93$, $\delta_B = 5,00$, $\delta_X = 5,95$ ($J_{AB} = 2,6$ Hz, $J_{AX} = 10,6$ Hz, $J_{BX} = 18$ Hz), 5,60 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-6), singletes de C-Me a 1,09 (3H), 1,05 (6H) y 0,69 (3H).

RMN (^{13}C).- CDCl_3 : Ver Parte Teórica, Tabla 10 (II.4.2).

Análisis.- Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$: C, 88,16; H, 11,84%

Encontrado: C, 88,27; H, 11,56%

-133-

IV.- CONCLUSIONES

Como consecuencia del contenido de esta Memoria pueden establecerse las siguientes CONCLUSIONES:

1ª.- Se ha realizado por primera vez un estudio de los componentes diterpénicos de la Cleonia lusitanica, especie endémica de la Península Ibérica. Como consecuencia de este estudio, se han caracterizado en la planta los conocidos ácidos dehidroabiético, isopimarico y 8,15-isopimaradien-18-oico, así como el endoperóxido del ácido palústrico, siendo esta la primera vez en que se cita a este último componente como sustancia natural, si bien no puede excluirse que sea un artefacto originado en el proceso de extracción.

2ª.- Entre los componentes diterpénicos de la Cleonia lusitanica existe otra sustancia no descrita hasta ahora en la bibliografía química y a la cual se ha dado el nombre trivial de ácido cleonioico. Por estudios espectroscópicos de IR, RMN protónica y RMN de carbono-13 se estableció una hipótesis estructural para es-

te nuevo diterpenoide, que posteriormente se confirmó mediante una serie de reacciones químicas y por correlación con una sustancia previamente descrita, estableciéndose con toda firmeza la estructura de ácido 11α -acetoxi-isopimara-7,15-dien-18-oico para el ácido cleonioico.

3ª.- Se ha realizado un estudio sobre la variación cuantitativa de los metabolitos diterpénicos de la Cleonia lusitanica recolectada en tres comunidades vegetales diferentes, observándose que existen variaciones que pueden atribuirse al entorno ecológico y a la naturaleza edáfica de sus asentamientos.

4ª.- De la Labiada Sideritis chamaedryfolia se aisló un componente diterpénico muy minoritario, para el cual se estableció la nueva estructura de ent-11 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno en base a diversos estudios espectroscópicos y transformaciones químicas.

5ª.- Se ha realizado por primera vez un estudio de la frac-

ción diterpénica de la Mimosácea Acacia leucophloea, aislándose dos compuestos no descritos hasta ahora en la bibliografía química. Sus nuevas estructuras de $1\beta, 15R, 16$ -trihidroxipimar-8(14)-eno y $15R, 16$ -epoxi- $1\beta, 11\alpha$ -dihidroxipimar-8(14)-eno han sido establecidas por métodos espectroscópicos, principalmente por RMN protónica y de carbono-13 y posteriormente confirmadas por diversas transformaciones químicas.

6ª.- Esta es la primera vez que se cita a un derivado de $15, 16$ -epoxipimareno como sustancia natural, pues sólo eran conocidas hasta ahora cadenas laterales vinílicas o de 1,2-dihidroxietilo para todos los compuestos naturales pertenecientes al sistema carbocíclico de pimarano.

7ª.- Se ha realizado un estudio de los espectros de RMN de carbono-13 de ocho sustancias diterpénicas pertenecientes al esqueleto hidrocarbonado de ent-rosa-5, 15-dieno (ent-5, 8-friedopimara-5, 15-dieno), que ha permitido asignar de una manera inequívoca los despla-

zamientos químicos de los diferentes carbonos en todas las sustancias estudiadas, incluido el hidrocarburo base. Hasta la fecha no existía ningún estudio sistemático de espectroscopía de resonancia magnética nuclear de carbono-13 sobre esta clase de compuestos y los resultados aquí obtenidos permiten abordar con garantía la elucidación de las estructuras de nuevos derivados de ent-rosa-5,15-dieno por medio de esta técnica, ya que se aportan los datos del hidrocarburo base y valores experimentales de los efectos diamagnéticos o paramagnéticos que originan diversos tipos de funciones oxigenadas asentadas sobre distintos átomos del sistema carbocíclico.

8a.- Finalmente, se describen en esta Memoria las constantes físicas y datos espectroscópicos de veintisiete productos, de los cuales veintiuno son, hasta ahora, nuevos en la literatura química.

-138-

V.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- W.A. Ayer, L.M. Browne, S. Fernández, D.E. Ward y T. Yoshida, Rev. Latinoamer. Quim., 9, 177 (1978).
- 2.- J.R. Hanson, "Chemistry of Terpenes and Terpenoids", editado por A.A. Newman, Academic Press, Londres, 1972, pág. 155.
- 3.- H. Obermann, G. Spiteller y G.A. Hoyer, Chem. Ber., 106, 3506 (1973).
- 4.- H. Ludwig, H. Obermann y G. Spiteller, Chem. Ber., 107, 2409 (1974).
- 5.- T.K. Devon y A.I. Scott, "Handbook of Naturally occurring Compounds. Volume II. Terpenes", Academic Press, Nueva York, 1972, pág 187 y siguientes.
- 6.- G. Ourisson, en "Chemistry in Botanical Classification". Nobel Symposio, editado por G. Benz y J. Santesson, Academic Press, Uppsala, 1974, págs 129 a 134.
- 7.- J.R. Hanson, Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe, 29, 395 (1971)
- 8.- Sir John Simonsen y Sir D.H.R. Barton, "The Terpenes", Cambridge University Press, Londres, 1951. Vol. III, pag 328 y siguientes.
- 9.- H. Erdtman y T. Norin, "The Chemistry of the order Copressales", Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe, 24, 206 (1966).
- 10.- R. McGrindle y K. Overton, "The chemistry of the cyclic diterpenoids", en "Advances in Organic Chemistry, Methods and Results".

Interscience Publishers, Nueva York, 1965, Vol V, pág 47 y siguientes.

- 11.- E. Fujita, Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto University, 48, 111 (1970).
- 12.- Idem, Ibid., 48, 294 (1970).
- 13.- Idem, Ibid., 49, 423 (1971).
- 14.- Idem, Ibid., 52, 519 (1974).
- 15.- E. Fujita, K. Fuji, Y. Nagao y M. Node, Ibid., 52, 690 (1974).
- 16.- Idem, Ibid., 53, 319 (1975).
- 17.- E. Fujita, K. Fuji, Y. Nagao, M. Node y M. Ochiai, Ibid., 53, 494 (1975).
- 18.- Idem, Ibid., 54, 197 (1976)
- 19.- "Terpenoids and Steroids", volúmenes 1 a 8, editados por la Chemical Society, Burlington House, Londres 1970-1978.
- 20.- Fitoterapia, 1979, 99.
- 21.- F.J. Evans y C.J. Soper, Lloydia, 41, 193 (1978).
- 22.- G.A. Cordel y N.R. Farnsworth, Lloydia, 40, 1 (1977).
- 23.- M. Yamaguchi, M. Taniguchi, I. Kubo y T. Kubota, Agric. and Biolog. Chem., 41, 2475 (1977).
- 24.- J. Weber y E. Hecker, Experientia, 34, 679 (1978).
- 25.- H. Fukui, K. Koshimizu y H. Egawa, Agric. and Biolog. Chem.,

- 42, 1419 (1978).
- 26.- N.R. Farnsworth y G.A. Cordell, Lloydia, 39, 420 (1976).
- 27.- Y. Hayashi, T. Matsumoto, Y.I. Yuk y T. Sakan, Tetrahedron Letters, 1977, 4215.
- 28.- Idem, Ibid., 1977, 2953.
- 29.- W. Adolf y E. Hecker, Israel J. Chem., 16, 75 (1977).
- 30.- J.S. Tandon, M.M. Dhar, S. Ramakumar y K. Venkatesan, Ind. J. Chem., 15, 880 (1977).
- 31.- E. Lindner, A.N. Dohadwalla y B.K. Bhattacharya, Arznimittel Forschung, 28-1, 284 (1978).
- 32.- F. Morletti, F. Monache y G.B. Marini-Bettolo, Gazz. chim. Ital., 106, 119 (1976).
- 33.- S.M. Kupchan, R.L. Baxter, M.F. Ziegler, P.M. Smith y R.F. Bryan, Experientia, 31, 137 (1975).
- 34.- E. Kitazawa, A. Ogiso, S. Takahashi, A. Sato, M. Kurabayashi, H. Kuwano, T. Hata y C. Tamura, Tetrahedron Letters, 1979, 1117.
- 35.- O. Prakash, D.S. Bhakuni, R.S. Kapil, G.S.R. Subba Rao y B. Ravindranath, J.C.S. Perkin I, 1979, 1305.
- 36.- I. Kubo, M.J. Pettei, K. Hirotsu, H. Tsuji y T. Kubota, J. Amer. Chem. Soc., 100, 628 (1978).
- 37.- A. Ogiso, E. Kitazawa et alter, Chem. and Pharm. Bull. (Tokyo),

- 26, 3117 (1978).
- 38.- E. Fujita, Y. Nagao, K. Kaneko, S. Nakazawa y H. Kuroda, Chem. and Pharm. Bull. (Tokyo), 24, 2118 (1976).
- 39.- M.C. Wani, H.L. Taylor, M.E. Wall, A.T. McPhail y K.D. Onan, J.C.S. Chem. Comm., 1977, 295.
- 40.- H.J. Hecht, G. Höfle, W. Steglich, T. Anke y F. Oberwinkler, J.C.S. Chem. Comm., 1978, 665.
- 41.- R.C. Cambie, K.N. Joblin y A.F. Preston, Aust. J. Chem., 24, 583 (1971).
- 42.- Idem, Ibid., 25, 1767 (1972).
- 43.- B. Rodríguez y S. Valverde, Patente española nº 432.812.
- 44.- J.R. Hanson, "The Tetracyclic Diterpenes", Pergamon Press, Londres, 1968, pág 41.
- 45.- C.A. Elliger, D.F. Zinkel, B.G. Chan y A.C. Waiss, Experientia, 32, 1364 (1976).
- 46.- O. Polunin y B.E. Smythies, "Guía de campo de las flores de España, Portugal y sudoeste de Francia", Editorial Omega, Barcelona, 1977, págs 18 y 19.
- 47.- C. von Carstenn-Lichterfelde, B. Rodríguez y S. Valverde, Experientia, 31, 757 (1975).
- 48.- B. Rodríguez, S. Valverde, R. Cuesta y A. Peña, Phytochemistry,

- 14, 1670 (1975).
- 49.- I. Carrascal, B. Rodríguez, S. Valverde y J. Fayos, J.C.S. Chem. Comm., 1975, 815.
- 50.- C. Márquez, F.M. Panizo, B. Rodríguez y S. Valverde, Phytochemistry, 14, 2713 (1975).
- 51.- B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 72, 189 (1976).
- 52.- M.A. López, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 72, 578 (1976).
- 53.- M.C. García-Alvarez y B. Rodríguez, Phytochemistry, 15, 1994 (1976).
- 54.- M.A. López, C. von Carstenn-Lichterfelde, B. Rodríguez, J. Fayos y M. Martínez-Ripoll, J. Org. Chem., 42, 2517 (1977)
- 55.- B. Rodríguez, Phytochemistry, 17, 281 (1978).
- 56.- B. Rodríguez, An. Quím., 74, 157 (1978).
- 57.- G. Savona, F. Piozzi y B. Rodríguez, Heterocycles, 9, 257 (1978).
- 58.- L.M. Aránguez y B. Rodríguez, An. Quím., 74, 522 (1978)
- 59.- M. Pinar, B. Rodríguez y A. Alemany, Phytochemistry, 17, 1637 (1978).
- 60.- G. Savona, M. Paternostro, F. Piozzi y B. Rodríguez, Tetrahedron Letters, 1979, 379.

- 61.- B. Rodríguez y C. von Carstenn-Lichterfelde, An. Quím., 75, 110 (1979).
- 62.- G. Savona, F. Piozzi, L.M. Aránguez y B. Rodríguez, Phytochemistry, 18, 859 (1979).
- 63.- B. Rodríguez y M. Pinar, Phytochemistry, 18, 891 (1979).
- 64.- F. Martín Panizo y B. Rodríguez, An. Quím., 75, 428 (1979).
- 65.- B. Rodríguez, G. Savona y F. Piozzi, J. Org. Chem., 44, 2219 (1979).
- 66.- B. Rodríguez y M. Pinar, An. Quím., 75, 936 (1979).
- 67.- J. Fayos, M. Martínez-Ripoll, M. Paternostro, F. Piozzi, B. Rodríguez y G. Savona, J. Org. Chem., 44, 4992 (1979).
- 68.- J.W. Rowe, "The common and systematic nomenclature of cyclic diterpenes", Forest Products Laboratory, Forest Service U.S. Department of Agriculture, Madison, Wisconsin 53705, Tercera revisión, Octubre 1968.
- 69.- S. Bory y M. Fétizon, Bull. Soc. Chim. France, 1964, 570.
- 70.- F. Fieser y W.P. Campbell, J. Amer. Chem. Soc., 60, 159 (1938)
- 71.- Idem, Ibid., 60, 2634 (1938).
- 72.- Idem, Ibid., 61, 2528 (1939).
- 73.- E.R. Littmann, Ibid., 60, 1419 (1938).
- 74.- T. Nishida, I. Wahlberg y C.R. Enzell, Org. Mag. Resonance,

- 9, 203 (1977).
- 75.- I. Lieberman, J. Amer. Chem. Soc., 78, 250 (1956).
- 76.- Arzneimittel-Forschung, 20, 737 (1970).
- 77.- B. Rodríguez, An. Quím., 67B, 73 (1971).
- 78.- W. Antkowiak, J.W. ApSimon y O.E. Edwards, J. Org. Chem., 27,
1930 y 1931 (1962).
- 79.- R.E. Ireland y J. Newbould, J. Org. Chem., 28, 23 (1963).
- 80.- E. Wenkert y B.L. Buckwalter, J. Amer. Chem. Soc., 94, 4367
(1972).
- 81.- K. Yamaguchi, "Spectral data of Natural Products", Volumen 1,
Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1970, pág 304 y referencias
aquí citadas.
- 82.- J. Polonsky, Z. Baskevitch, N. Cagnoli-Bellavita, P. Cecchere-
lli, B.L. Buckwalter y E. Wenkert, J. Amer. Chem. Soc., 94,
4369 (1972).
- 83.- G. Weissmann, Tetrahedron Letters, 1968, 2053
- 84.- O.E. Edwards y R. Howe, Chem. and Ind. (London), 1958, 629.
- 85.- Idem, Cand. J. Chem., 37, 760 (1959).
- 86.- N. Ikekawa, Y. Honma, N. Morisaki y S. Sakai, J. Org. Chem.,
35, 4145 (1970).
- 87.- V.M. Loeblich, D.E. Baldwin y R.V. Lawrence, J. Amer. Chem. Soc.,

- 77, 2823 (1955).
- 88.- W.H. Schuller, R.N. Moore y R.V. Lawrence, J. Amer.Chem. Soc., 82, 1734 (1960).
- 89.- W.H. Schuller y R.V. Lawrence, J. Amer. Chem. Soc., 83, 2563 (1961).
- 90.- E. Wenkert, A. Afonso, P. Beak, R.W.J. Carney, P.W. Jeffs y J.D. McChesney, J. Org. Chem., 30, 713 (1965).
- 91.- E. Wenkert y P. Beak, J. Amer. Chem. Soc., 83, 998 (1961).
- 92.- F. Piozzi, S. Passannanti, M.L. Marino y V. Sprio, Cand. J. Chem., 50, 109 (1972).
- 93.- J.J. Schneider, J.C.S. Perkin I, 1973, 1361 y referencias aquí citadas.
- 94.- G.I. Poos, G.E. Arth, R.E. Beyler y L.H. Sarett, J.Amer. Chem. Soc., 75, 427 (1953).
- 95.- A.I. Scott, "Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products", Pergamon Press, Londres, 1964, pág 61 y siguientes.
- 96.- F. Martín Panizo, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 66B, 571 (1970).
- 97.- A. Horeau, Tetrahedron Letters, 1961, 506.
- 98.- Idem, Ibid., 1962, 965.

- 99.- A. Horeau y H.B. Kagan, Tetrahedron, 20, 2431 (1964).
- 100.- A. Horeau y A. Nouaille, Tetrahedron Letters, 1971, 1939.
- 101.- R. Weidmann y A. Horeau, Ibid., 1973, 2979.
- 102.- H. Brockmann y N. Risch, Angew. Chem. internat. Edit., 13, 664 (1974).
- 103.- P.K. Grant, C. Huntrakul y D.R.J. Sheppard, Austr. J. Chem., 20, 969 (1967).
- 104.- H. Erdtman y L. Westfelt, Acta. Chem. Scand., 17, 1826 (1963)
- 105.- M.C. García-Alvarez, M. Paternostro, F. Piozzi, B. Rodríguez y G. Savona, Phytochemistry, 18, 1835 (1979).
- 106.- F. Piozzi, P. Venturella, A. Bellino y R. Mondelli, Tetrahedron, 24, 4073 (1968).
- 107.- A.G. González, J.L. Bretón, B.M. Fraga y J.G. Luis, An. Quím., 67, 1245 (1971)
- 108.- A.G. González, J.L. Bretón, B.M. Fraga y J.G. Luis, Tetrahedron Letters, 1971, 3097
- 109.- P. Venturella, A. Bellino y F. Piozzi, Atti Accad. Sci. Lett. Arti Palermo, Parte 1, 1969-70. C.A.: 77, 14033ly.
- 110.- A.G. González, B.M. Fraga, M.G. Hernández y J.G. Luis, Tetrahedron, 29, 561 (1973).
- 111.- F. Piozzi, P. Venturella, A. Bellino y M.L. Marino, J.C.S.

- Perkin I, 1973, 1164.
- 112.- A.G. González, B.M. Fraga, M.G. Hernández y J.C. Luis, Phytochemistry, 12, 1113 (1973).
- 113.- Idem, An. Quím., 70, 730 (1974).
- 114.- Idem, Phytochemistry, 12, 2721 (1973).
- 115.- P. Venturella, A. Bellino y F. Piozzi, Phytochemistry, 14, 1451 (1975).
- 116.- A.G. González, B.M. Fraga, M. G. Hernández, F. Larruga y J.G. Luis, Phytochemistry, 14, 2655 (1975).
- 117.- P. Venturella y A. Bellino, Fitoterapia, 48, 3 (1977).
- 118.- P. Venturella y A. Bellino, Experientia, 33, 1270 (1977).
- 119.- P. Venturella, A. Bellino y M.L. Marino, Phytochemistry, 17, 811 (1978).
- 120.- M.I. Carrascal, R.M. Rabanal, C. Márquez y S. Valverde, An. Quím., 74, 1547 (1978)
- 121.- A.G. González, B.M. Fraga, M. G. Hernández, J.G. Luis y F. Larruga, Biochem. Systema. and Ecology, 7, 115 (1979).
- 122.- M.A. López, C. Márquez, R.M. Rabanal y S. Valverde, An. Quím., 75, 911 (1979).
- 123.- A. García-Granados, J.A. Garrido, A. Parra y A. Peña, An. Quím., 75, 780 (1979).

- 124.- P. Venturella y A. Bellino, Phytochemistry, 18, 1571 (1979)
- 125.- C. von Carstenn-Lichterfelde, F.M. Panizo, T.G. de Quesada, B. Rodríguez, S. Valverde, W.A. Ayer y J.A.H. Ball, Cand. J. Chem., 53, 1172 (1975).
- 126.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez y S. Valverde, Phytochemistry, 14, 517 (1975).
- 127.- B. Rodríguez y S. Valverde, Chem. and Ind. (London), 1974, 1010.
- 128.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez y S. Valverde, Phytochemistry, 13, 2008 (1974).
- 129.- R.M. Rabanal, B. Rodríguez y S. Valverde, Experientia, 30, 977 (1974).
- 130.- W.A. Ayer, J.A.H. Ball, B. Rodríguez y S. Valverde, Cand. J. Chem., 52, 2792 (1974).
- 131.- C. von Carstenn-Lichterfelde, S. Valverde y B. Rodríguez, Aust. J. Chem., 27, 517 (1974).
- 132.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 70, 239 (1974).
- 133.- F.M. Panizo, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 70, 164 (1974).
- 134.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 69,

1201 (1973).

- 135.- B. Rodríguez y S. Valverde, Tetrahedron, 29, 2837 (1973).
- 136.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez, S. Valverde y S. Huneck, An. Quím., 69, 757 (1973).
- 137.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 68, 1467 (1972).
- 138.- F. Martín Panizo, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 68, 1463 (1972).
- 139.- T.G. de Quesada, B. Rodríguez, S. Valverde y S. Huneck, Tetrahedron Letters, 1972, 2187.
- 140.- F. Piozzi, P. Venturella, A. Bellino, M.P. Paternostro, B. Rodríguez y S. Valverde, Chem. and Ind. (London), 1971, 962.
- 141.- B. Rodríguez, S. Valverde y J.M. Rocha, An. Quím., 66B, 503 (1970).
- 142.- J.L. Bretón, A.G. González, J.M. Rocha, F.M. Panizo, B. Rodríguez y S. Valverde, Tetrahedron Letters, 1969, 599.
- 143.- S. Valverde y B. Rodríguez, Phytochemistry, 16, 1841 (1977).
- 144.- E.M. Escamilla y B. Rodríguez, Phytochemistry, en prensa
- 145.- Idem, An. Quím., en prensa.
- 146.- A. Gaudemer, J. Polonsky y E. Wenkert, Bull. Soc. Chim. France, 1964, 407.

- 147.- I. Kubo, I. Miura, K. Nakanishi, T. Kamikawa, T. Isobe y T. Kobota, J.C.S. Chem. Comm., 1977, 555.
- 148.- G. Savona y B. Rodríguez, Phytochemistry, en prensa
- 149.- P. Hedden, J. McMillan y M.J. Grinsted, J.C.S. Perkin I, 1973, 2773.
- 150.- A.J. McAlees y McGrindle, J.C.S. Perkin I, 1975, 861.
- 151.- J.D. Connolly e I.M.S. Thornton, J.C.S. Perkin I, 1973, 736.
- 152.- E. Fujita y M. Ochiai, Chem. and Pharm. Bull. (Tokyo), 26, 264 (1978).
- 153.- R.M. Coates y E.F. Bertram, J. Org. Chem., 36, 2625 (1971).
- 154.- D.H. Williams, N.S. Bhacca y C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc., 85, 2810 (1963).
- 155.- Y. Fujimoto y T. Tatsuno, Tetrahedron Letters, 1976, 3325.
- 156.- M.C. García-Alvarez, F.M. Panizo y B. Rodríguez, An. Quím., 75, 752 (1979).
- 157.- S.K. Mukherjee y V.V.S. Murty, J. Sci. Ind. Res., 11B, 125 (1952).
- 158.- K.C. Joshi y T. Sharma, J. Ind. Chem. Soc., 54, 649 (1977).
- 159.- F. Bohlmann y M. Lonitz, Chem. Ber., 111, 843 (1978).
- 160.- A.G. González, J.M. Arteaga, J.L. Bretón y B.M. Fraga, Phytochemistry, 16, 107 (1977).

- 161.- C. von Carstenn-Lichterfelde, C. Pascual, R.M. Rabanal, B. Rodríguez y S. Valverde, Tetrahedron, 33, 1989 (1977).
- 162.- H. Eggert, C.L. VanAntwerp, N.S. Bhacca y C. Djerassi, J. Org. Chem., 41, 71 (1976).
- 163.- E. Wenkert, P. Ceccherelli, M.S. Raju, J. Polonsky y M. Tingoli, J. Org. Chem., 44, 146 (1979).
- 164.- M.C. García-Alvarez y B. Rodríguez, J. Org. Chem., en prensa
- 165.- R.C. Cambie, I.R. Burfitt, T.E. Goodwin y E. Wenkert, J. Org. Chem., 40, 3789 (1975).
- 166.- S.H. Groven y J.B. Stothers, Can. J. Chem., 52, 870 (1974).
- 167.- I. Wahlberg, S.O. Almqvist, T. Nishida y C.R. Enzell, Acta Chem. Scand., B29, 1047 (1975).
- 168.- B. Delmond, B. Papilland, J. Valade, M. Petrand y B. Barbe, Org. Mag. Resonance, 12, 209 (1979).
- 169.- R.S. Cahn y C.K. Ingold, J. Chem. Soc., 1951, 612.
- 170.- R.S. Cahn, C.K. Ingold y V. Prelog, Experientia, 12, 81 (1956).
- 171.- E. Wenkert, J.S. Bindra, C.J. Chang, D.W. Cochran y F.M. Schell, Accounts Chem. Res., 7, 46 (1974).
- 172.- E. Wenkert, B.L. Buckwalter, I.R. Burfitt, M.J. Gasic, H.E. Gottlieb, E.W. Hagaman, F.M. Schell y P.M. Workulich, en "Topics in C-13 NMR Spectroscopy", vol. 2, pág 81. Nueva York,

1976, Wiley-Interscience Inc.

- 173.- F.W. Wehrli, Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe, 36, 1 (1979).
- 174.- S.O. Almqvist y C.R. Enzell, Acta Chem. Scand., B29, 695
(1975).
- 175.- B.L. Buckwalter, I.R. Burfitt, A.A. Nagel, E. Wenkert y F.
Näf, Helv. Chim. Acta, 58, 1567 (1975).
- 176.- G. Savona, F. Piozzi, J.R. Hanson y M. Siversns, J.C.S. Perkin I,
1976, 1607.
- 177.- C.R. Smith, R.V. Madrigal, D. Weisleder, K. L. Mikolajczak y
R.J. Highet, J. Org. Chem., 41, 593 (1976).
- 178.- T. Kato, C. Kabuto, N. Sasaki, M. Tsunagawa, H. Aizawa, K. Fu-
jita, Y. Kato e Y. Kitahara, Tetrahedron Letters, 1973, 3861.
- 179.- A. Matsuo, S. Uto, M. Nakayama y S. Hayashi, Tetrahedron Le-
tters, 1976, 2451.
- 180.- P.S. Manchand y J.F. Blount, Tetrahedron Letters, 1976, 2489.
- 181.- H. Wagner, R. Seitz, H. Lotter y W. Herz, J. Org. Chem., 43,
3339 (1978).
- 182.- E. Gács-Baitz, L. Radics, G.B. Oganessian y V.A. Mnatsakanian,
Phytochemistry, 17, 1967 (1978).
- 183.- G. Savona, M.P. Paternostro, F. Piozzi, J.R. Hanson, P.B.
Hitchcock y S.A. Thomas, J.C.S. Perkin I, 1978, 643.

- 184.- J.R. Hanson, M. Siverns, F. Piozzi y G. Savona, J.C.S. Perkin I, 1976, 114.
- 185.- J.R. Hanson, G. Savona y M. Siverns, J.C.S. Perkin I, 1974, 2001.
- 186.- G. Ellames y J.R. Hanson, J.C.S. Perkin I, 1976, 1666.
- 187.- W. Herz y R.P. Sharma, J. Org. Chem., 41, 1021 (1976).
- 188.- I. Wahlberg, C.R. Enzell y J.W Rowe, Phytochemistry, 14, 1677 (1975).
- 189.- K. Yamasaki, H. Kohda, T. Kobayashi, R. Sakai y O. Tanaka, Tetrahedron Letters, 1976, 1005.
- 190.- C. von Carstenn-Lichterfelde, C. Pascual, J. Pons, R.M. Rabanal, B. Rodríguez y S. Valverde, Tetrahedron Letters, 1975, 3569.
- 191.- A.A. Chalmers, C.P. Gorst-Allman y L.P.L. Piacenza, Tetrahedron Letters, 1977, 1665.
- 192.- A. López, C. Márquez, R.M. Rabanal y S. Valverde, An. Quím., 74, 1100 (1978).
- 193.- B. Rodríguez, A. Alemany y M. Pinar, Tetrahedron Letters, 1978, 3069.
- 194.- R.M. Cory y J.B. Stothers, Org. Mag. Resonance, 11, 252 (1978).
- 195.- A. Arnone, R. Mondelli y J.St. Pyrek, Org. Mag. Resonance,

12, 429 (1979).

- 196.- R. Evans, J.R. Hanson y M. Siverns, J.C.S. Perkin I, 1975, 1514.
- 197.- R. Radeglia, G. Adam y P.D. Hung, Tetrahedron Letters, 1976, 605.
- 198.- I. Yamaguchi, M. Miyamoto, H. Yamane, N. Murofushi, N. Takahashi y K. Fujita, J.C.S. Perkin I, 1975, 996.
- 199.- X.A. Domínguez, C. Cisneros, E. Guajardo, R. Villarreal, V. Zebel y W.H. Watson, Rev. Latinoamer. Quím., 9, 99 (1978).
- 200.- W.B. Smith, J. Org. Chem., 44, 1631 (1979).
- 201.- B. Dockerill, J.R. Hanson y M. Siverns, Phytochemistry, 17, 572 (1978).
- 202.- B.L. Buckwalter, I.R. Burfitt, H. Felking, M. Joly-Gondket, K. Naemura, M.F. Salomon, E. Wenkert y P.M. Wovkulich, J. Amer. Chem. Soc., 100, 6445 (1978).
- 203.- S. Hanessian, A. Bargiotti y M. La Rue, Tetrahedron Letters, 1978, 737.
- 204.- C. Márquez, B. Rodríguez y S. Valverde, An. Quím., 71, 603 (1975).
- 205.- W.R. Bamford y T.S. Stevens, J. Chem. Soc., 1952, 4735.
- 206.- J.W. Wheeler, R.H. Chung, Y.N. Vaishnav y C.C. Shroff, J. Org.

Chem., 34, 545 (1969).

207.- R.H. Shapiro y M.J. Heath, J. Amer. Chem. Soc., 89, 5734
(1967).

208.- H. Eggert y D. Djerassi, J. Org. Chem., 38, 3788 (1973).

209.- B. Loev y M.M. Goodman, Chem. and Ind. (London), 1967, 2026.

210.- J.C. Díez, M.I. Nieto, J.L. Oteo y M.V. Dabrio, pendiente de
publicación.

VI.- ESPECTROS DE LOS NUEVOS
PRODUCTOS NATURALES

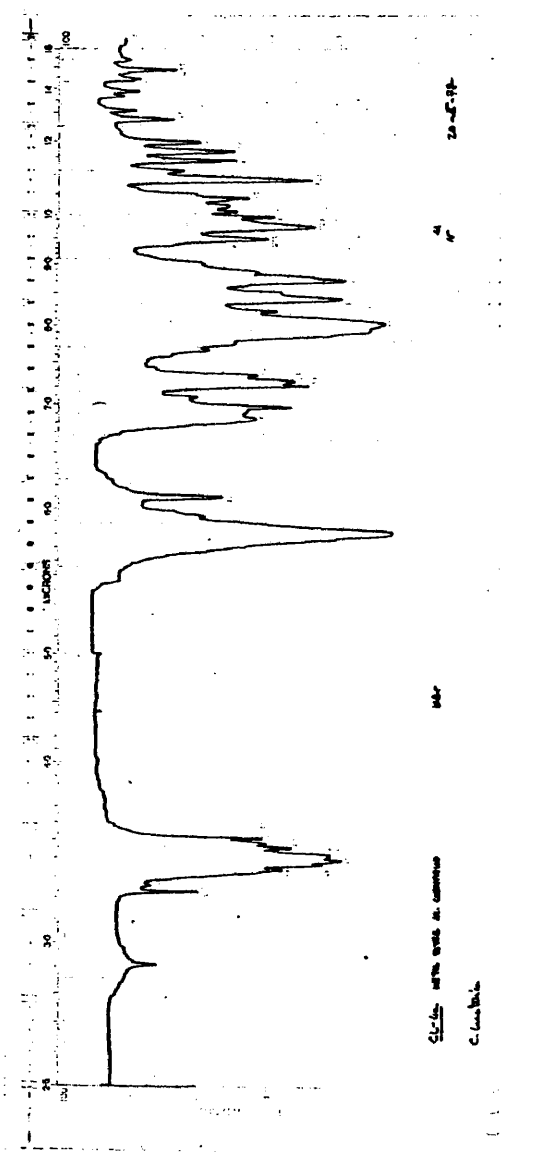


Fig.1. Espectro IR del ester metílico del ácido clemático (11)

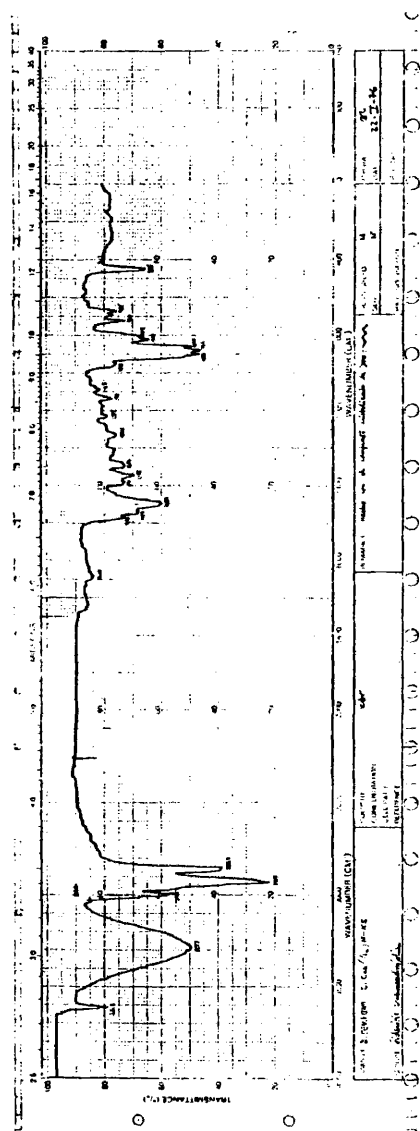


Fig.2. Espectro IR del ent-11β,18-dihidroxi-kaur-15-eno (33)

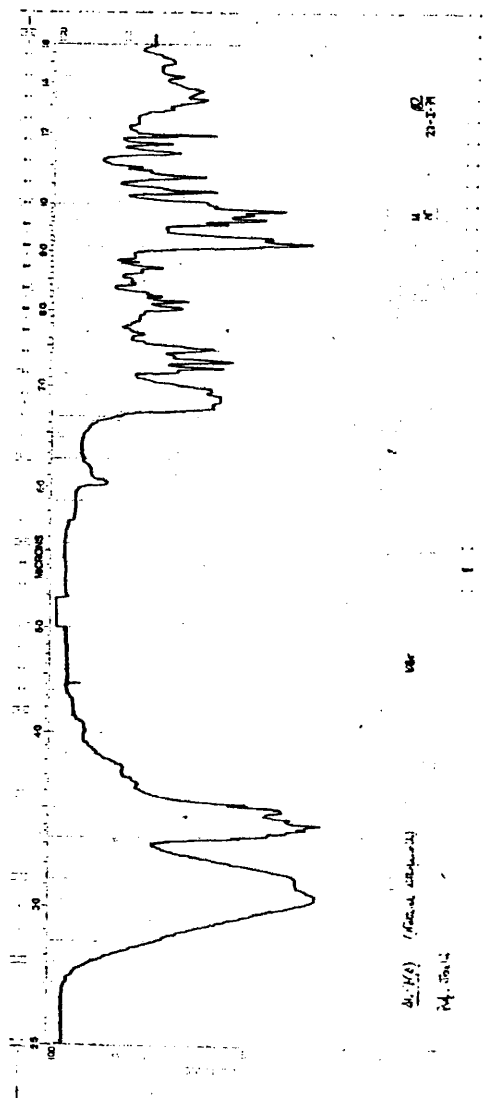


Fig.3. Espectro IR del leucophleol (43)

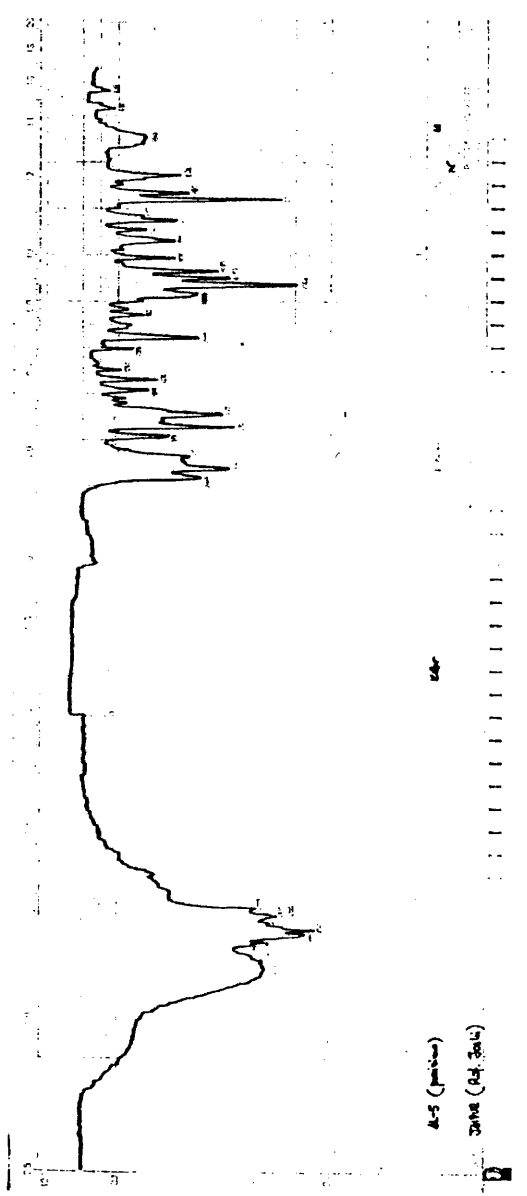


Fig.4. Espectro IR del leucophleoxol (46)

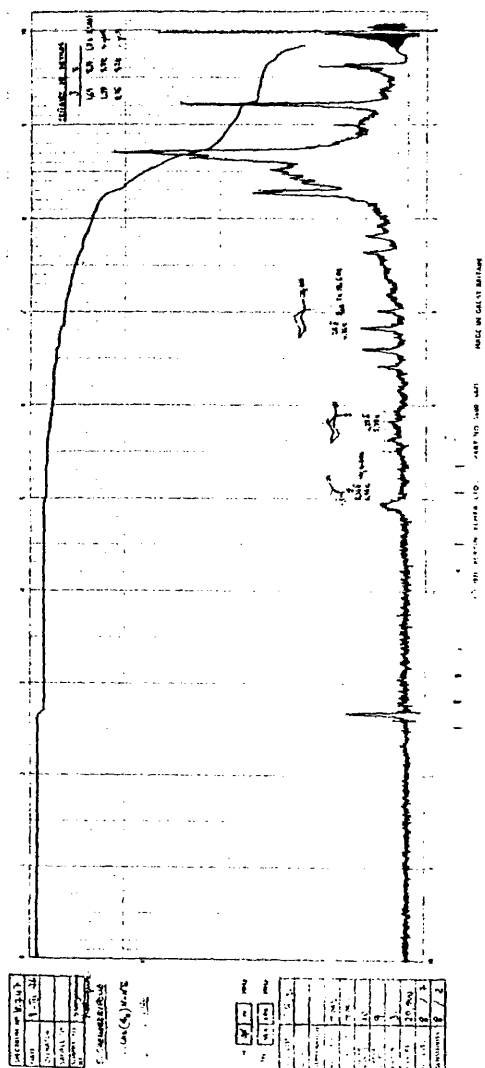


Fig.6. Espectro de RMN (^1H) del ent-11 β ,18-dihidroxi-kaur-15-eno (33)

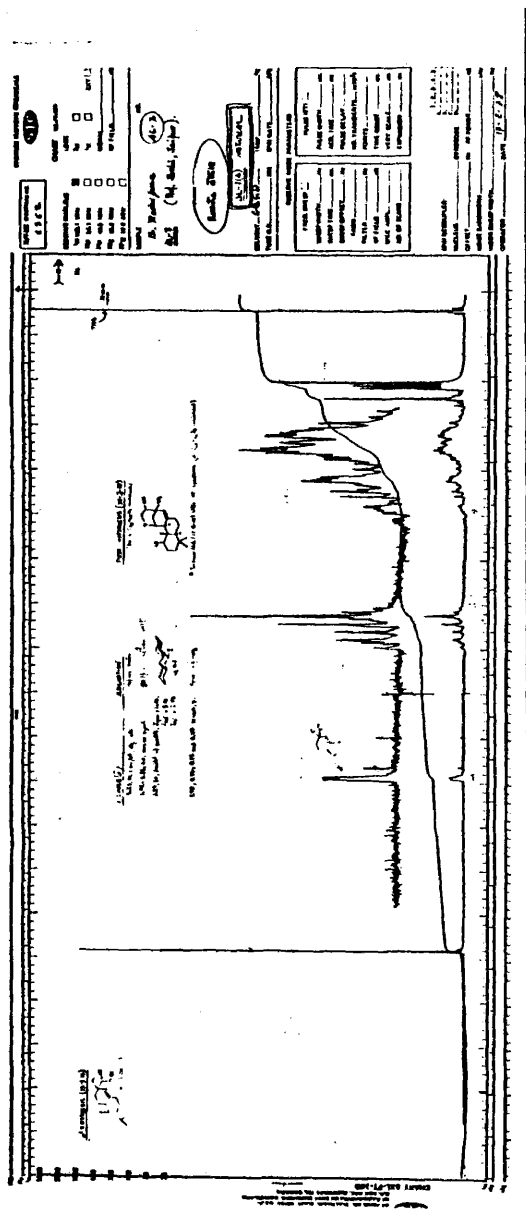


Fig.7. Espectro de RMN (^1H) del leucophleol (43)

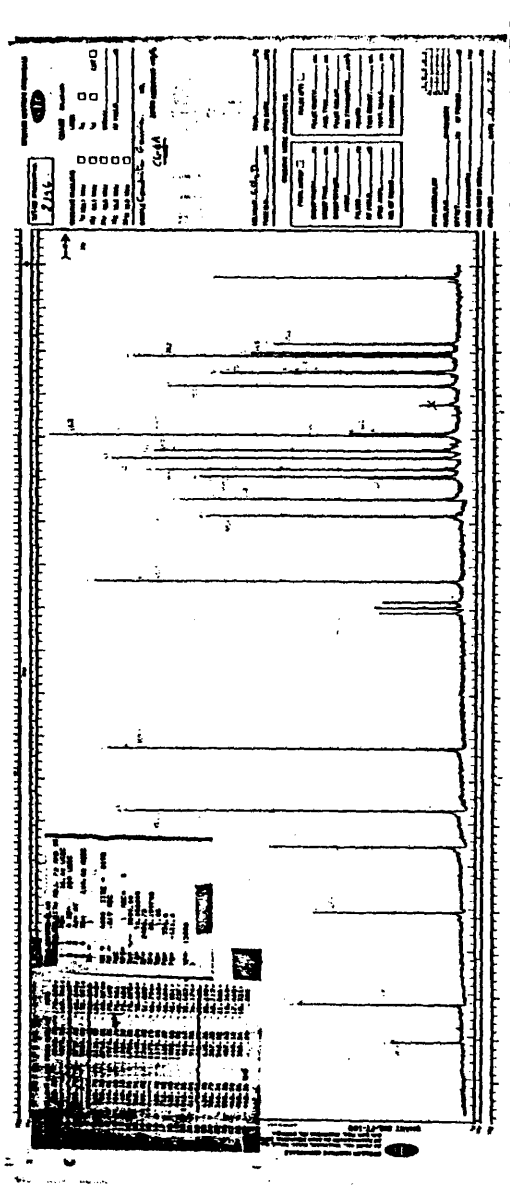


Fig.9. Espectro de RMN (^{13}C) del ester metílico del ácido clemático (11)

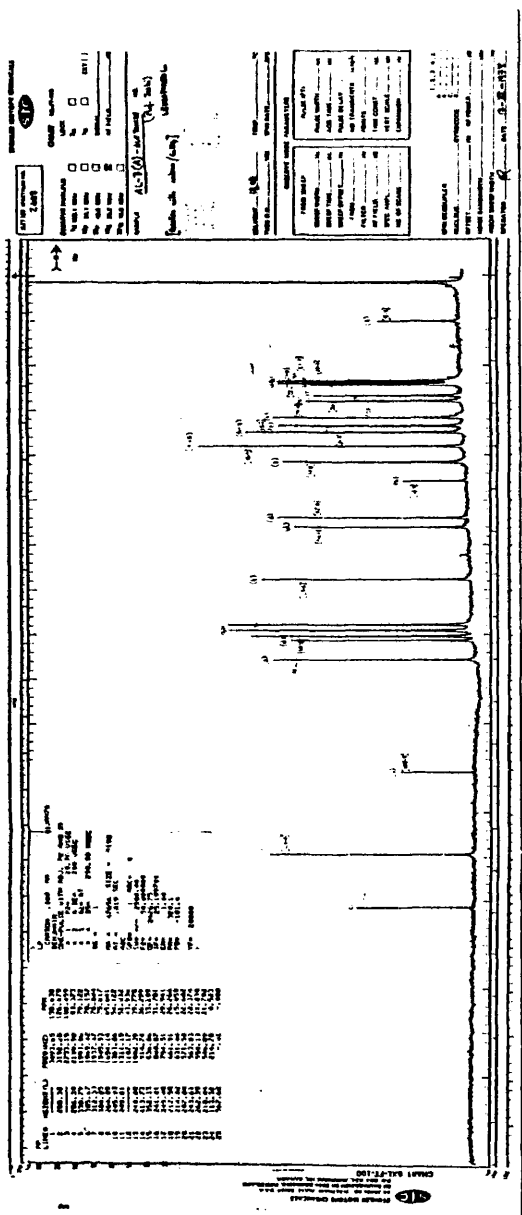


Fig.10. Espectro de RMN (^{13}C) del acetónido del leucophleol (44)

